

RICARDO ALESSANDRO VIEIRA

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS CENTRAIS DO EXTRATO
AQUOSO (EA) DE *Stachytarpheta cayennensis* Vahl**

**Dissertação de mestrado apresentada ao
Curso de Pós-graduação em Farmacologia
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial à obtenção do título
de Mestre em Farmacologia.**

**Orientador: Profa. Dra. Thereza Christina
Monteiro de Lima Nogueira**

FLORIANÓPOLIS – SC

2001

**“AVALIAÇÃO DOS EFEITOS CENTRAIS DO EXTRATO
AQUOSO (EA) DE *Stachytarpheta cayennensis* Vahl”**

POR

RICARDO ALESSANDRO VIEIRA

**Dissertação julgada e aprovada em sua
forma final, pela Orientadora e membros
da Banca Examinadora, composta pelas
Professoras Doutoras:**

**Thereza Christina Monteiro de Lima Nogueira
Orientadora – PGFMC – UFSC**

**Rosely Oliveira Godinho
Depto. de Farmacologia – UNIFESP**

**Lia Rieck
Depto. de Farmacologia – UFPR**

**Maria Salete A. de Castro
Depto. de Farmacologia – ICB - UFMG**

Florianópolis, 26 de março de 2001.



**Prof. Dr. Reinaldo Naoto Takahashi
Coordenador do Programa**

VIEIRA, Ricardo Alessandro. **Avaliação dos efeitos centrais do extrato aquoso de *Stachytarpheta cayennensis* Vahl**. Florianópolis, 2001, 121 p. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Profa. Dra. Thereza Christina Monteiro de Lima Nogueira

Defesa: 20/03/2001

No presente estudo, investigamos as ações do EA de *S. cayennensis* no sistema nervoso central (SNC) de camundongos, procurando avaliar uma possível atividade que pudesse contribuir para as ações farmacológicas descritas na literatura. Camundongos Swiss fêmeas foram tratados com EA de *S. cayennensis* (0,25; 0,5 e 1 g/kg) ou água (controle) por via intragástrica e, após 3 h, foram submetidos a diferentes testes comportamentais: labirinto em cruz elevado, nado forçado, comportamento estereotipado, convulsões induzidas por pentilenotetrazol e eletrochoque transcorneal máximo, sono barbitúrico e etéreo, temperatura retal, movimentação e rota-rod. Nossos resultados mostraram que o tratamento oral agudo com o EA de *S. cayennensis* somente potenciou o sono barbitúrico, evidenciando a falta de atividade central do extrato em estudo. Investigou-se então a hipótese do EA interferir em vias metabolizadoras hepáticas do pentobarbital. O aumento dos níveis plasmáticos de pentobarbital após o tratamento com o EA indicou um efeito inibidor do sistema enzimático hepático responsável pela metabolização do pentobarbital, sem qualquer sinal de hepatotoxicidade. Assim, a potenciação do sono produzida pelo EA deveu-se simplesmente a um efeito farmacocinético e não a uma atividade no SNC.

**“ How many rivers we have
to cross before we can talk
to the boss.”**

Bob Marley, 1974

Esse trabalho é dedicado à:

Patrícia Martins, pelo constante apoio e incentivo, e aos meus filhos, Pamela Martins Vieira e Otávio Martins Vieira, pela alegria, ternura e incentivo compartilhados nos momentos especiais de minha vida, dos quais faço uso para vencer os obstáculos e alcançar meus ideais.

Aos meus pais, Jair Otávio Vieira e Antônia de Lourdes Vieira, pela formação moral e atenção a mim dispensados durante mais essa jornada de minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Prof. Dra. Thereza Christina Monteiro de Lima Nogueira, pela paciência e confiança em mim depositados, bem como pela compreensão e sabedoria com que me orientou nesse trabalho;

Aos meus irmãos, Gerson Luís Vieira e Jairton César Vieira, cunhada, Lilian Fabiana Vieira, e sobrinhos, Maria Eduarda Vieira e Vítor Vinícius Vieira, pelo carinho de uma vida inteira;

Aos amigos Patrício, Rony, Roger, Betaine, Dila, Fernando e Fabão, pelo incentivo constante;

Aos Profs. do Departamento de Farmacologia, Setor de Produtos Naturais, da Escola Paulista de Medicina: Dra. Caden Souccar, Dra. Maria Teresa R. Lima-Landman, Dra. Rosely O. Godinho e, em especial, ao Prof. Dr. Antônio José Lapa, pela ajuda no desenvolvimento do presente trabalho e pela ampla contribuição na minha formação profissional;

A rapaziada do futebol de sábado à tarde, Chico, Fábio, Ferrari, Rob, Alceu, Lerri, Anderson, Kaiakalu Mirim, Zeca, Xande e Filipe, pelos momentos de descontração;

Aos professores de graduação da FURB, Dr. Geraldo Moretto e Cláudio Laurentino Guimarães, pela formação científica e incentivo para o desenvolvimento e realização dos meus sonhos;

Aos amigos do Laboratório de Neurofarmacologia, Elaine, Esteban, Fábio, Filipe, Luciana, Marcelo, Marquinho, Raquelzinha e Raquel Maria, pela parceria e cumplicidade durante as fases mais difíceis da pós-graduação;

À todos os funcionários e professores da Coordenadoria Especial de Farmacologia da UFSC, em especial à Vera e à Profª. Rosa, que de alguma maneira contribuíram para a realização desse trabalho;

À direção e aos funcionários do Biotério Central e aos funcionários do Biotério Setorial da Coordenadoria Especial da Farmacologia, Pedro e Neto, meu muito obrigado;

Aos amigos de FeSBE e congressos afins, Cristiano, Valfredo, Marcelo, Juliano, Eunice, Alcides, Biba e Adair, pelo companheirismo diário;

Ao Dr. Omar e Dr. Emerson do Laboratório KG de Análises Clínicas, e ao André Luiz e Francis, pós-graduandos do Setor de Produtos Naturais da Escola Paulista de Medicina - UNIFESP, pelo auxílio na parte experimental final deste trabalho;

À **Deus**, por ter me concedido a vida e energia suficiente para enfrentar minhas dificuldades e superar meus obstáculos.

RESUMO

A *Stachytarpheta cayennensis* Vahl (Verbenaceae), conhecida popularmente como gervão roxo, está amplamente distribuída no Brasil e na América Latina. É usada popularmente no tratamento de estados gripais, artrites, hemorróidas, bem como nos distúrbios do trato gastrointestinal. Estudos farmacológicos conduzidos com a *S. cayennensis* têm mostrado atividades antiuicerogênica, analgésica e hipotensora do extrato aquoso (EA) em bioensaios (Battistini e cols., 2000a; Battistini e cols., 2000b; Mesia e cols., 1998a; Mesia e cols., 1997; Mesia e cols., 1996a; Schapoval e cols., 1998), porém nenhuma atividade central tem sido consistentemente demonstrada.

No presente estudo, investigamos as ações do EA de *S. cayennensis* no sistema nervoso central de camundongos, procurando avaliar uma possível atividade que pudesse contribuir para as ações farmacológicas já descritas. Em complementação, investigamos também possíveis alterações farmacocinéticas da preparação que pudessem levar a resultados falso-positivos na avaliação do efeito central do EA.

Camundongos Swiss fêmeas foram tratados com EA de *S. cayennensis* (0,25; 0,5 e 1 g/kg) ou água (controle) por via intragástrica e, após 3 h, foram submetidos a diferentes testes farmacológicos comportamentais. Foram investigadas possíveis propriedades ansiolítica (teste do labirinto em cruz elevado), antidepressiva (teste do nado forçado), neuroléptica (teste do comportamento estereotipado), anticonvulsivante (pelos testes de convulsão induzida por pentilenotetrazol e eletrochoque transcorneal máximo) e hipno-sedativa (teste do

sono barbitúrico), bem como a influência do EA na temperatura retal e na atividade e performance motora (testes da caixa de movimentação e do rota-rod, respectivamente).

Nossos resultados demonstram que o tratamento de camundongos com o EA de *S. cayennensis* (1g/kg) antes da administração do pentobarbital sódico causou redução da latência e prolongação do tempo de sono induzido pelo barbitúrico, embora outros parâmetros registrados nos diversos modelos farmacológicos utilizados no rastreamento de uma atividade central, nas doses utilizadas, não tenham diferido estatisticamente dos valores do grupo controle.

Como o teste do sono barbitúrico está, em geral, relacionado a uma atividade depressora central, particularmente um efeito hipno-sedativo ou ansiolítico, propriedades essas não condizente com os resultados negativos encontrados nos outros modelos comportamentais utilizados, avaliou-se a atividade do EA no sono induzido por éter, uma droga hipnótica com metabolização pulmonar. Nossos resultados revelam que, neste teste, nenhuma diferença estatística foi encontrada entre os animais tratados com EA e os animais do grupo controle. Esse resultado praticamente descarta qualquer envolvimento central na potenciação do sono barbitúrico induzida pelo EA. Uma hipótese a ser investigada, portanto, seria a de uma ação do EA em vias metabolizadoras hepáticas envolvidas com a biotransformação do pentobarbital.

Visando verificar se a atividade depressora observada relacionava-se aos processos farmacocinéticos de biotransformação do pentobarbital sódico,

investigamos se o tratamento com o EA de *S. cayennensis* alterava a cinética do barbitúrico. Nossos resultados mostram que o EA aumenta os níveis plasmáticos de pentobarbital, indicando um possível efeito inibidor do sistema enzimático hepático responsável pela metabolização do pentobarbital.

Investigamos também a influência do EA sob a função hepática, pela dosagem das concentrações plasmáticas da gama glutamil transferase, transaminase pirúvica, transaminase oxalacética e fosfatase alcalina, pois níveis séricos alterados dessas enzimas são indicadores de hepatotoxicidade. Os níveis séricos dos indicadores de lesão foram analisados após tratamento (3 h) e repetido (7 dias) com o EA, para ampliar nossa margem de segurança na avaliação de uma possível atividade hepatotóxica da *S. cayennensis* e para afastar a possibilidade de resultados falso-positivos. Nossos resultados não mostraram qualquer atividade hepatotóxica do EA.

Em conclusão, nossos resultados indicam claramente que o EA de *S. cayennensis* não apresenta qualquer atividade farmacológica no sistema nervoso central de camundongos, referenciando a falta de indicação popular do uso do gervão no tratamento de distúrbios mentais. No entanto, o EA parece ser um inibidor do sistema microsomal hepático responsável pela biotransformação de xenobióticos. Essa inibição não decorre de qualquer tipo de hepatotoxicidade, e pode estar relacionado às enzimas da família dos citocromos P450 (em especial à sub-família 2B), principais sistemas enzimáticos envolvidos na degradação

metabólica do pentobarbital (Nebert e Gonzalez, 1987), hipótese a ser futuramente testada.

ABSTRACT

Stachytarpheta cayennensis (Verbenaceae), popularly named “gervão” or “orgevão”, is widely distributed in South and Central America countries, including Brazil. Particularly, in the Brazilian folk medicine its aqueous extract is used to treat gastrointestinal disorders and inflammation states. Previous pharmacological studies indicate that the aqueous extract (AE) of *S. cayennensis* shows antiulcerogenic, analgesic and hypotensive activities (Battistini *et al.*, 2000a; Battistini *et al.*, 2000b; Mesia *et al.*, 1998a, Mesia *et al.*, 1997, Mesia *et al.*, 1996a; Schapoval *et al.*, 1998). However, so far, no central activities have been described.

In the present study we aimed to evaluate the activity of the AE of *Stachytarpheta cayennensis* Vahl on the central nervous system (CNS) in mice, searching for actions that could be accounted for any of the pharmacological activities aforementioned.

Male Swiss mice were orally treated with AE of *S. cayennensis* (0,25; 0.5 and 1 g/kg) or tap water (control), and after 3 h they were submitted to the different pharmacological tests. We investigated putative central activities performing anxiolytic (elevated plus maze test), hypno-sedative (pentobarbital-induced sleep), antidepressant (forced swimming), neuroleptic (climbing behavior), anticonvulsant (pentylenetetrazol and maximal electroshock convulsion) tests, besides verifying the AE influence in rectal temperature, on locomotor activity (automated activity cage) and motor performance (rota-rod).

The acute oral treatment with AE (1g/kg) only reduced the latency to and increased the sleeping time induced by pentobarbital 50 mg/kg i.p.. The other

behavioral parameters in the several tests performed were not altered by the range of doses used. Since the potentiation of the barbiturate-induced sleep is indicative of central depressant properties, an effect not corroborated by the behavioral findings in the other pharmacological tests, we investigated the AE activity in the sleeping time induced by ether, a hypnotic drug with lung metabolism, in contrast to pentobarbital which has liver bio-transformation. Our results showed no statistical difference between AE or vehicle-treated groups. These findings suggest that *S. cayennensis* is devoid of CNS activity. Thus, a possible hypothesis to the enhanced barbiturate-induced sleep should be an inhibitory effect of AE upon the microsomal hepatic system which metabolizes sodium pentobarbital. In order to determine whether AE interferes with *in vivo* metabolism of xenobiotics, thereby modifying pharmacological responses to drugs, we investigated the influence of *S. cayennensis* treatment on the plasmatic kinetics of pentobarbital. Our results indicate a possible enzymatic inhibition of barbiturate metabolizing pathway, since AE-treated animals present higher plasmatic levels of pentobarbital time-related to the observed pharmacological effect, i.e., the potentiation of the induced sleep.

To address the possibility of liver damage, which could account to the liver reduced metabolism, we investigated the AE effects in the hepatic function. We evaluated the plasmatic levels of gamma glutamyl transferase, pyruvic transaminase, aspartate transaminase and alkaline phosphatase, hepatic enzymes correlated with liver disorders. The enzymatic activity were evaluated after acute (3 h) and repeated

oral treatment (7 days). Our results do not show any change induced by AE treatments.

The main folk indication of *S. cayennensis* is for the treatment of gastric disorders and its use to central disorders are poorly reported. The results thereby presented indicated that actually the AE seems do not present any central activity, corroborating the lack of folk information. Moreover, our results suggest a putative pharmacokinetic interaction between AE and barbiturate at hepatic level, maybe in 2B isoforms cytochromes family (the most important metabolizing pathway to barbiturate biotransformation (Nebert and Gonzales, 1987), as indicated by the AE enhancement on the duration of barbiturate-induced sleep and by the increased pentobarbital serum levels. This interaction could be of interest to better understand other pharmacological activities already reported for *S. cayennensis*.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1	Taxas de crescimento anual do mercado de fitoterápicos por região (%)	05
Figura 1	Protocolo recomendado para o desenvolvimento de um novo medicamento	07
Figura 2	Razões para validar plantas medicinais.	09
Tabela 2	Principais tipos de distúrbios psiquiátricos ou neurológicos diagnosticados em saúde pública no mundo.....	13
Figura 3	<i>Stachytarpheta cayennensis</i> Vahl.	16
Figura 4	Distribuição das plantas do gênero <i>Stachytarpheta</i> nas Américas do Sul e Central	19
Tabela 3	Parâmetros registrados em camundongos no teste de observação geral.....	49

Figura 5	Efeito do EA de <i>S. cayennensis</i> Vahl (0,25 – 1,0 g/kg) no índice de estereotipia em camundongos submetidos ao teste do comportamento estereotipado	51
Figura 6	Efeito do EA de <i>S. cayennensis</i> Vahl (0,25 – 1,0 g/kg) na movimentação espontânea de camundongos	53
Figura 7	Efeito do EA de <i>S. cayennensis</i> Vahl (0,25 – 1,0 g/kg) no tempo de imobilização em camundongos submetidos ao teste do nado forçado	55
Figura 8	Efeito do EA de <i>S. cayennensis</i> Vahl (0,25 – 1,0 g/kg) na frequência de entradas (A) e tempo de permanência nos braços abertos (B) do LCE	57
Figura 9	Efeito do EA de <i>S. cayennensis</i> Vahl (0,25 – 1,0 g/kg) no número de entradas nos braços fechados (A), levantamentos (B), imersões de cabeça (C) e estiramentos (D) em camundongos submetidos ao labirinto em cruz elevado.....	58
Figura 10	Efeito do EA de <i>S. cayennensis</i> Vahl (0,25 – 1,0 g/kg) no número de quedas de camundongos quando submetidos ao teste do rota-rod.....	59
Figura 11	Efeito do EA de <i>S. cayennensis</i> Vahl (0,25 – 1,0 g/kg) na latência (A) e duração (B) da primeira convulsão em camundongos submetidos ao teste de convulsão induzida por pentilenotetrazol	61

Figura 12	Efeito do EA de <i>S. cayennensis</i> Vahl (0,25 – 1,0 g/kg) no tempo de convulsão (A) e no tempo de recuperação (B) de camundongos submetidos ao teste de convulsão induzida por eletrochoque transcorneal máximo	62
Figura 13	Efeito do EA de <i>S. cayennensis</i> Vahl (0,25 – 1,0 g/kg) na latência (A) e duração (B) do sono induzido por pentobarbital sódico	64
Figura 14	Temperatura retal de camundongos tratados com EA de <i>S. cayennensis</i> Vahl (0,25 – 1,0 g/kg)	65
Figura 15	Efeito do EA de <i>S. cayennensis</i> Vahl (0,25 – 1,0 g/kg) na latência (A) e duração (B) do sono induzido pela inalação de éter etílico	67
Figura 16	Cinética plasmática do pentobarbital em camundongos após tratamento agudo (3 h) e repetido (7 dias) com EA de <i>S. cayennensis</i> Vahl	69
Figura 17	Concentração plasmática de Gama Glutamil Transferase (A), Transaminase Oxalacética (B), Transaminase Pirúvica (C) e Fosfatase Alcalina (D) no teste de avaliação da função hepática de ratos submetidos ao tratamento agudo (3h) e repetido (7dias) com EA de <i>S. cayennensis</i> Vahl	71
Tabela 4	Média e e.p.m. do índice de estereotipia induzida pela apomorfina (10 mg/kg, i.p.) em camundongos tratados com EA de <i>S. cayennensis</i> (v.o.).....	115

Tabela 5	Média e e.p.m. do tempo de imobilização no teste do nado forçado (5 min) em camundongos tratados com EA de <i>S. cayennensis</i> (v.o.).....	115
Tabela 6	Média e e.p.m. da atividade locomotora na caixa de movimentação espontânea (60 min) em camundongos tratados com EA de <i>S. cayennensis</i> (v.o.).	116
Tabela 7	Média e e.p.m. do tempo de permanência no rota-rod (60 s) em camundongos tratados com EA de <i>S. cayennensis</i> (v.o.).....	116
Tabela 8	Média e e.p.m. do índice de ansiedade avaliado no labirinto em cruz elevado (5 min) em camundongos tratados com EA de <i>S. cayennensis</i> (v.o.).....	117
Tabela 9	Média e e.p.m. da latência, duração e do número de crises convulsivas induzidas por pentilenotetrazol (80mg/kg, s.c.) em camundongos tratados com EA de <i>S. cayennensis</i> (v.o.)	118
Tabela 10	Média e e.p.m. da relação tempo extensão/tempo flexão (TE/TF) e do tempo de recuperação das convulsões induzidas eletricamente (60Hz, 50mA, 0.2 s) em camundongos tratados com EA de <i>S. cayennensis</i> (v.o.)	118
Tabela 11	Média e e.p.m. da latência e duração da hipnose induzida por pentobarbital sódico (50 mg/kg, i.p.) em camundongos tratados com EA de <i>S. cayennensis</i> (v.o.).....	119
Tabela 12	Média e e.p.m. da latência e duração da hipnose induzida por éter etílico (5 mL) em camundongos tratados com EA de <i>S. cayennensis</i> (v.o.).....	119
Tabela 13	Média e e.p.m. da temperatura retal de camundongos tratados com EA de <i>S. cayennensis</i> (v.o.).....	120

Tabela 14	Concentração plasmática do pentobarbital sódico após o tratamento com EA de <i>S. cayennensis</i> (v.o.).....	121
------------------	---	-----

Tabela 15	Média e e.p.m. da concentração plasmática das enzimas Gama Glutamil Transferase, Transaminase Oxalacética, Transaminase Pirúvica e Fosfatase Alcalina avaliada em ratos tratados com EA de <i>S. cayennensis</i> (v.o.)	122
------------------	---	-----

LISTA DE ABREVIATÖES

AL - América Latina

ALT - Transaminase pirúvica

AST - Transaminase oxalacética

CYP - Citocromo P450

DA – Dopamina

EA - Extrato aquoso

ECM - Eletrochoque máximo

e.p.m. - Erro padrão da média

FA - Fosfatase alcalina

i.p. - Intraperitoneal

LCE - Labirinto em cruz elevado

OMS - Organização Mundial da Saúde

PTZ - Pentilenotetrazol

s.c. - Subcutânea

SNC - Sistema nervoso central

SUS - Sistema Único de Saúde

WHO - *World Health Organization*

γ GT - Gama glutamil transferase

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	01
Histórico da fitoterapia	01
Validação de plantas medicinais	06
Distúrbios do sistema nervoso central	12
Espécie botânica	15
OBJETIVOS	22
MATERIAIS E MÉTODOS	23
Animais	23
Drogas, sais e solventes	23
Material botânico	25
Obtenção do extrato vegetal	25
Administração das drogas	25
Procedimentos experimentais	26
Teste hipocrático de observação geral	30
Investigação da propriedade neuroléptica do EA pelo modelo do comportamento estereotipado	30
Investigação da influência do EA de <i>S. cayennensis</i> na atividade locomotora de camundongos	31
Investigação da atividade do tipo antidepressiva do EA de <i>S. cayennensis</i> pelo modelo do nado forçado	33

Investigação da atividade do tipo ansiolítico EA de <i>S. cayennensis</i> no teste do labirinto em cruz elevado.....	34
Investigação da influência do EA de <i>S. cayennensis</i> na performance motora de camundongos submetidos ao teste do rota-rod	37
Investigação da atividade anticonvulsivante do EA de <i>S. cayennensis</i>	38
Convulsão induzida por pentilenotetrazol	38
Convulsão induzida por eletrochoque transcorneal máximo.....	40
Investigação da atividade hipno-sedativa do EA de <i>S. cayennensis</i> pelo modelo do sono barbitúrico	41
Investigação da influência do EA de <i>S. cayennensis</i> na temperatura retal de camundongos	41
Investigação da atividade hipno-sedativa do EA de <i>S. cayennensis</i> pelo modelo do sono etéreo.....	42
Estudo da cinética plasmática do pentobarbital sódico após tratamento com EA de <i>S. cayennensis</i>	43
Investigação da função hepática de ratos após tratamento agudo e repetido com EA de <i>S. cayennensis</i>	45
Análise estatística.....	47
RESULTADOS	48
Investigação de propriedades centrais do EA de <i>S. cayennensis</i> através do teste de observação geral	48
Avaliação da atividade do tipo neuroléptica do EA de <i>S. cayennensis</i> pelo método do comportamento estereotipado	50

Avaliação da atividade locomotora de camundongos tratados com EA de <i>S. cayennensis</i> na caixa de movimentação	52
Avaliação da atividade tipo antidepressiva do EA de <i>S. cayennensis</i> pelo modelo do nado forçado.....	54
Avaliação da atividade ansiolítica EA de <i>S. cayennensis</i> pelo modelo do labirinto em cruz elevado	56
Avaliação da performance motora de camundongos tratados com o EA de <i>S. cayennensis</i> no teste do rota-rod	59
Avaliação da atividade anticonvulsivante em camundongos submetidos aos modelos de convulsão induzida química e eletricamente após tratamento com EA de <i>S. cayennensis</i>	60
Caracterização da atividade hipno-sedativa do EA de <i>S. cayennensis</i> no teste do sono barbitúrico	63
Influência do EA de <i>S. cayennensis</i> na temperatura retal de camundongos	65
Caracterização da atividade hipno-sedativa do EA de <i>S. cayennensis</i> no teste do sono etéreo.....	66
Estudo da cinética plasmática do pentobarbital sódico após tratamento com EA de <i>S. cayennensis</i>	68
Investigação da influência do EA de <i>S. cayennensis</i> na função hepática de ratos..	70
DISCUSSÃO	72
	87 ...
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
ANEXOS	114

INTRODUÇÃO

Histórico da fitoterapia

Etimologicamente, a palavra fitoterapia vem do grego *phytos*, que significa plantas, e *terapia*, que significa cuidado ou tratamento. A prática fitoterápica repousa sobre uma tradição secular, associada a relatos lendários. Ela foi transmitida por via oral ou por observações, de geração em geração, o que constitui nossa herança cultural médica (Mowrey, 2000; Sallé, 1996).

Desde tempos muito antigos, diversas espécies vegetais vêm sendo rotineiramente utilizadas pela humanidade com outros objetivos além daquele de suprir as suas necessidades alimentares. Povos de todas as civilizações têm feito uso das plantas, dentre outras finalidades, para curar as suas próprias moléstias e as de seus animais domésticos (Oliveira e Martins, 1998). Até mesmo chimpanzés têm sido observados selecionando plantas medicinais para tratar de suas disfunções orgânicas (Hobbs, 1998).

Registros arqueológicos provam que, há milênios, diversos povos principalmente os orientais, conheciam o poder das plantas medicinais, seja como substâncias aromáticas, remédios ou venenos. A Índia possui a mais antiga prática médica, a medicina Ayurvédica, existente há mais de 5.000 anos. Baseada nos Vedas (livro sagrado), contém mais de setecentos produtos diferentes, codificando desde o uso de perfumes e substâncias aromáticas para fins cerimoniais até o seu uso terapêutico (Fróes e Rocha, 1998).

A civilização egípcia, com aproximadamente quatro mil anos, ficou conhecida como o berço da medicina. No Papiro de Ebers, datado de 1550 a.C., descoberto no Egito em meados do século passado, foram mencionados centenas de preparações diferentes, incluindo extratos de plantas, metais (chumbo e cobre) e venenos animais de diversas procedências. Os egípcios

utilizavam tais produtos na religião, saúde e higiene, com o conhecimento dos efeitos das substâncias aromáticas no corpo e psique, acreditando que os aromas espantavam os espíritos causadores das doenças. Os egípcios também conheciam as propriedades da papoula, cila, babosa, óleo de rícino, entre outros, dos quais faziam purgantes, diuréticos e vermífugos, bem como condimentos alimentares e cosméticos. Muitos desses conhecimentos tiveram origem na cultura hebraica, conforme se verifica nas citações da Bíblia (Almeida, 1993; Hobbs, 1998).

A China, possuindo uma medicina tradicional, há dois mil anos publicou o Livro das Ervas Medicinais, com 365 espécies catalogadas. Os assírios, babilônicos, fenícios e árabes também conheciam os poderes das plantas. Hipócrates escreveu, em 400 a.C., o *Corpus Hipocraticum*, onde abordava a arte de curar com diversas espécies vegetais, ressaltando a importância da alimentação natural como base para o tratamento das doenças (Fróes e Rocha, 1998), prática em moda hoje em dia, denominada como nutracêuticos (Sears, 1995).

Os romanos absorveram todo esse conhecimento e ficaram famosos pelo emprego de plantas venenosas, com as quais muitas vezes se livraram dos inimigos (Fróes e Rocha, 1998).

No Renascimento, durante o século XV, houve um grande impulso na pesquisa científica e no método experimental. Na corte de Luís XIV, o médico Nicholas Lemery descreveu diversos preparados no *Dictionaire des Drogues Simples*. Nessa época, difundiu-se muito o uso da água de melissa e da água-de-colônia. Paracelso, já no século XVI, afirmava que o papel do médico era

estimular a resistência do organismo, usando remédios naturais e ajudando a desenvolver a capacidade de auto-cura do doente (Teske e Trentini, 1995).

O desenvolvimento das sociedades medievais levou ao descobrimento de novas espécies medicinais e ao aperfeiçoamento de seu uso. Com o tempo essas passaram a associar-se à atividade médica, incorporando a chamada “Matéria Médica”, isto é, os materiais usados em terapêutica (Marques, 1997).

Toda essa evolução tem culminado num uso difundido de plantas medicinais para tratar várias doenças. Algumas das drogas utilizadas na medicina ocidental moderna são baseadas no uso tradicional dessas plantas, sendo algumas drogas usadas como compostos puros - como a atropina, morfina, quinina e digoxina - isolados das plantas de uso popular, enquanto outras são compostos modificados estruturalmente como, por exemplo, a aspirina e os anestésicos locais (Cox e Balick, 1994; Taylor, 2000). No total, 119 compostos derivados de plantas são utilizados na medicina ocidental, e dos 25 agentes farmacêuticos de maior aceitação no mercado mundial, 12 são derivados de produto naturais (Farnsworth, 1985), sendo esses provenientes de cerca de 90 das 250.000 espécies conhecidas de plantas existente em nosso planeta (Farnsworth, 1993).

Nos Estados Unidos, aproximadamente 10% dos principais medicamentos possuem extrato de plantas com seus ingredientes ativos (PBIO 100 Lecture Notes, 1998). Estima-se que cerca de 25% de todos os medicamentos encontrados na clínica moderna sejam direta ou indiretamente derivados de plantas superiores. Em alguns casos particulares, como drogas antitumorais e antimicrobianas, aproximadamente 60% dos medicamentos disponíveis no mercado e a grande maioria daqueles submetidos aos estágios finais dos estudos

clínicos são oriundos de produtos naturais, principalmente de plantas superiores (Cragg e cols., 1997; De Smet, 1997).

A ecologia química e o uso tradicional popular podem identificar plantas ou parte dessas que podem ser interessantes fontes de compostos bioativos. Assim sendo, plantas oferecem um enorme potencial para o desenvolvimento de novas drogas (Evans, 1991; Farkas, 1980; Harvey, 2000; Nisbet e Moore, 1997; Samuelsson, 1989; Strohl, 2000; Verpoorte, 1998).

Esse nível de interesse relacionado aos produtos naturais, com maior destaque às plantas medicinais, pode ser atribuído a diversos fatores, incluindo a notável diversidade de estruturas químicas e atividade biológica dos metabólitos secundários ocorrentes naturalmente, a utilidade de novos produtos naturais bioativos como sondas bioquímicas, o desenvolvimento de novas e sensíveis técnicas para detectar produtos naturais biologicamente ativos e o refinamento das técnicas para isolar, purificar e caracterizar estruturalmente esses constituintes ativos (Clark, 1996; Harvey, 2000; Strhol, 2000). Contudo, razões de mercado, tais como a preferência de consumidores por terapias naturais, a reduzida incidência de efeitos colaterais, a preferência da população pela medicina preventiva devido ao aumento de idade (perspectiva de vida) e o relativo baixo custo, se comparados aos produtos sintéticos, podem reforçar o interesse terapêutico em relação às plantas medicinais e produtos derivados, como ferramentas na clínica moderna (Calixto, 2000; Gruenwald, 1996).

Relatos literários revelam, portanto, que o uso de plantas medicinais como agentes terapêuticos tem crescido no mundo inteiro, seja como matéria prima para produção de fitoterápicos e/ou fitofármacos (tabela 1), seja como agente de atenção primária de saúde, onde as plantas são utilizadas *in natura*, geralmente

sob formulações galênicas (Calixto, 2000; Ferreira, 1998; Gruenwald, 1996; Nisbet e Moore, 1997).

Elisabetsky (1987) citando estimativas da Organização Mundial da Saúde, revela que aproximadamente 80% da população mundial usa as medicinas tradicionais – baseada no uso de plantas medicinais – para suprir as necessidades de assistência médica primária. Uma razoável estimativa é que haja aproximadamente 2.500 espécies de plantas superiores em nosso planeta e supõe-se que entre 25% e 50% dessas tenham sido utilizadas com propostas medicinais em um ou outro momento (Farnsworth, 1993).

TABELA 1 – Taxas de crescimento anual do mercado de fitoterápicos por região (%).

Região	Crescimento 1985 – 1991	Crescimento 1991 – 1992	Projeção 1993 - 1998
EUA	10	12	12
União Européia	10	5	8
Resto da Europa	12	8	12
Japão	18	15	15
Sudeste da Asia	15	12	12
India e Paquistão	12	15	15

Retirado de Ferreira, 1998.

Validação de Plantas Medicinais

Embora várias plantas estejam sendo utilizadas (e mesmo comercializadas) com fins terapêuticos, a grande maioria (aproximadamente 93%, segundo Samuelsson, 1989), não possui dados científicos que comprovem a sua eficácia e seu espectro toxicológico no homem, assim como garantia de qualidade do produto ou de sua produção (Ferreira, 1998; Lapa e cols., 2000b). O uso popular e mesmo o tradicional não são suficientes para validar eticamente as plantas medicinais como medicamento eficazes e seguros (Lapa e cols., 1999).

Por outro lado, a utilização de plantas medicinais é um recurso terapêutico alternativo muito útil nos programas de atenção primária à saúde quando utilizadas plantas cujas propriedades terapêuticas tenham sido justificadas cientificamente (Matos, 1991).

A validação de plantas medicinais consiste na verificação, através de estudos científicos apropriados, das propriedades terapêuticas e da segurança dessas em humanos, qualificando seu uso como medicamento (Fig. 1) (Lapa, 2000b).

Nos países em desenvolvimento, os altos custos dos novos medicamentos e sua inviabilidade para as comunidades distantes, limitam a aquisição e uso desses a uma parte privilegiada da população, direcionando, assim, o uso de plantas com propriedades terapêuticas como, geralmente, o único recurso na atenção primária à saúde (Lapa e cols., 2000a). Dos 25 medicamentos mais vendidos no mundo, 20 são americanos. Existe quase que um preço mundial único, baseado nas políticas de preços praticadas nos Estados Unidos, que está entre os mais elevados do planeta (O Remédio Fitoterápico no Brasil, 2000). Assim sendo, existem várias razões que justificam a validação científica de plantas

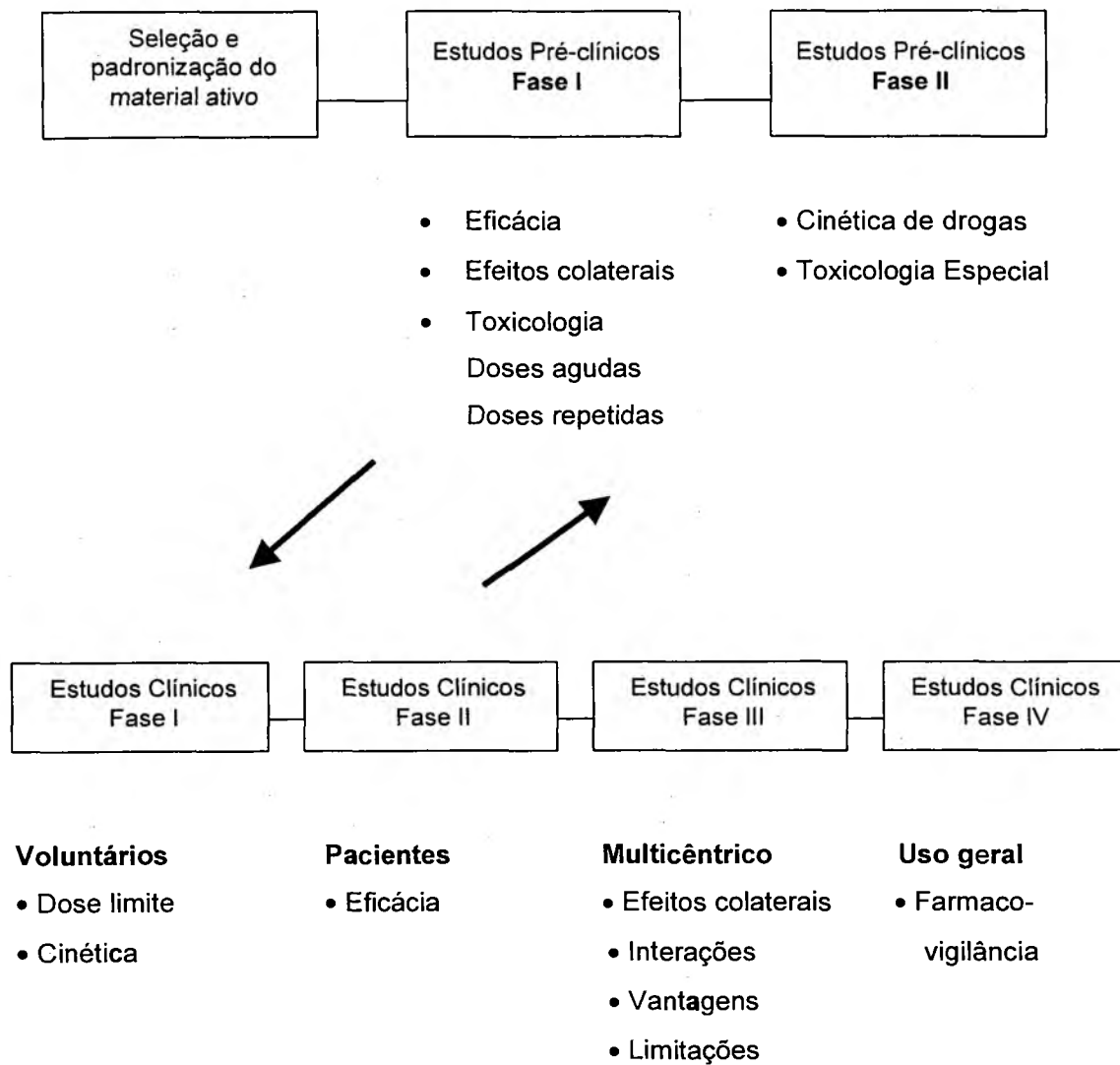


FIGURA 1 – Protocolo recomendado para o desenvolvimento de um novo medicamento (Lapa e cols., 2000b);.

utilizadas popularmente (Fig. 2).

A América Latina (AL) reflete com precisão a realidade em relação as plantas medicinais de outros países ou regiões em pleno desenvolvimento econômico, sendo o uso dessa alternativa em regiões subdesenvolvidas da AL movida pela tradição, necessidade e baixa disponibilidade de medicamentos convencionais para atenção primária à saúde (Lapa e cols., 2000a).

A este respeito, no Brasil, o comércio de medicamentos atende apenas à faixa de população economicamente ativa (cerca de 30%), supondo-se que os restantes 100 milhões de habitantes utilizem produtos de venda não registrada para minorar suas dores e corrigir distúrbios funcionais de fácil percepção (Lapa e cols., 1999).

Di Stasi (1996) revela ainda que no Brasil, 20% da população é responsável por 63% do consumo dos medicamentos disponíveis; o restante encontra nos produtos de origem natural, especialmente nas plantas medicinais, sua única fonte de recursos terapêuticos.

No Brasil, as indústrias farmacêuticas multinacionais invadem e controlam o mercado nacional, responsabilizando-se por um gasto anual, pela população, de US\$ 3 bilhões com a aquisição de medicamentos alopáticos, o correspondente a 95% dos fármacos comercializados no país (Rodycs, 1999). Atualmente, 84% de todas as drogas encontradas no mercado brasileiro são importadas, e 78% das drogas processadas em nosso território são realizadas por companhias multinacionais (Elisabetsky, 1991).

Necessidades Sociais:

Informação científicas a curto prazo para a população usuária de plantas medicinais;

Fonte Terapêutica:

Descoberta de novos medicamentos com atividade farmacológica, mecanismo de ação e perfil terapêutico inovadores;

Inconsistência Botânica:

Conhecimento da variabilidade química de plantas da mesma espécie que crescem em diferentes condições ecológicas;

Requerimentos Éticos:

Avaliação de conseqüências farmacológicas/toxicológicas desconhecidas após curta e longa utilização de um determinado medicamento;

Benefícios Econômicos:

Fortalecimento do mercado regional com fitofármacos padronizados de alta aceitação, dando condições para o desenvolvimento da indústria farmacêutica local;

Propostas Acadêmicas:

Desenvolvimento de novos medicamentos nos países pobres, permitindo a formação de um suporte científico auto-sustentável para a avaliação de novos medicamentos, formação de especialistas e o fortalecimento da vigilância sanitária orientada para a definição das políticas de saúde.

FIGURA 2 – Razões para validar plantas medicinais.

Retirado de Lapa e cols., 2000b.

A redução da importação de drogas por detenção de espécies nativas que podem ser cultivadas e localmente processadas como fontes de compostos medicinais pode não somente ser passo crítico na síntese de drogas avaliadas em baixo custo, mas pode também minimizar significativamente a falta de recursos para uma melhora do sistema de saúde (Antezana, 1981; Lapa e cols., 1999).

Tal cenário revela a necessidade de se buscar alternativas para superar a dependência externa, principalmente quando se confrontam os altos preços médios praticados no Brasil em comparação com aqueles praticados nos países desenvolvidos. Em síntese, acredita-se que a auto-determinação regional na política de saúde só poderá ocorrer com a produção autóctone de medicamentos e com o fortalecimento da indústria farmacêutica nacional. A validação de plantas medicinais consagradas parece ser a forma mais imediata de serem atingidos esses objetivos (Lapa e Souccar, 1995).

Medicamentos inovadores podem ser obtidos por desenho molecular e síntese química de novas moléculas, ou podem ser descoberto na natureza. A inexistência de indústria farmacêutica nacional de porte e a ausência de uma política científica orientada para a diminuição da dependência de medicamentos importados, levaram à obsolência da infra-estrutura brasileira na área. Como consequência, o desenvolvimento de medicamentos com as técnicas utilizadas pelas indústrias multinacionais tem possibilidades mínimas no país, uma vez que a química fina é incipiente em nossa realidade. A alternativa para o desenvolvimento parece mais provável se fincada em novos insumos farmacêuticos que sejam obtidos de plantas medicinais e fitoterápicos de uso regional, que da exploração de congêneres sintéticos (Lapa e cols., 1996).

As plantas medicinais e fitoterápicos, portanto, parecem ser os substratos ideais para esse trabalho, pois são insumos acessíveis e naturalmente valorizados, isto é, já têm, pela aceitação popular, um alto valor agregado que facilita a aderência terapêutica e a competitividade de marcas (Lapa e cols., 1996).

Além disso, as plantas medicinais trazem embutida a possibilidade de fornecerem produtos terapeuticamente equivalentes a paradigmas internacionais e constituem fonte incomparável de compostos químicos inovadores com novos espectros terapêuticos. As estatísticas mundiais de utilização de fitoterápicos e a incorporação de medicamentos vegetais inovadores como o *Ginkgo biloba* e o taxol ao arsenal terapêutico, são exemplos científicos incontestes deste fato. Do ponto de vista empresarial basta lembrar o vulto do mercado de fitoterápicos nos países desenvolvidos, cerca de 12 bilhões de dólares anuais, pelo menos 2 vezes o mercado brasileiro de todas as especialidades (Evans, 1991; Lapa e Souccar, 1995; PBIO 100 Lecture Notes, 1998).

Assim, a idéia primordial na indicação do uso de fitoterápicos na medicina humana não é substituir medicamentos registrados, mas oferecer medicamentos alternativos, talvez até mais baratos, com espectros de ação adequados e, quiçá, com indicações terapêuticas complementares às medicações existentes. Os objetivos secundários, não menos importantes, seriam a valorização das tradições populares e o fornecimento de substrato autóctone para o desenvolvimento da indústria farmacêutica local (Farnsworth, 1993; Lapa e cols., 1999).

DISTÚRBIOS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Desde a fundação da Organização Mundial da Saúde (OMS; WHO: World Health Organization), em 1946, o bem estar mental tem sido considerado como parte integral da definição geral de saúde. No preâmbulo da Constituição da OMS, saúde é definida como um “estado de completo bem estar físico, mental e social e não meramente a ausência de doenças ou enfermidades.”

Doença mental é um fenômeno complexo, determinado por múltiplos fatores sociais, ambientais, biológicos e fisiológicos. Sua prevalência depende em parte do sucesso da implantação de setores da saúde pública para controlar doenças neuropsiquiátricas como depressão, distúrbios da ansiedade, esquizofrenia, demência e epilepsia.

Hoje, estima-se que 150 milhões de pessoas do mundo inteiro sofram, em determinado momento, de algum tipo de doença neuropsiquiátrica, incluindo distúrbios mentais, comportamentais e abuso de drogas. Os principais tipos de distúrbios psiquiátricos ou neurológicos, geralmente definidos como problemas de saúde pública, são apresentados na tabela 2.

Os dados sugerem que problemas de saúde mental estão entre os de maior importância, pois os distúrbios neuropsiquiátricos diagnosticados representam 11,5% da responsabilidade global de doenças (WHO, 2000).

No Brasil, as doenças mentais foram responsáveis pela internação de 8710 pacientes em hospitais do Sistema Único de Saúde (SUS), em agosto de 2000 (SIH/SUS, 2000). Essa alta morbidade hospitalar referente às doenças mentais levou o país a disponibilizar o total de R\$ 1.656.378,99 dos recursos federais do SUS, em medicamentos para a saúde mental, em julho de 2000 (Brasil, 2000).

TABELA 2 - Principais tipos de distúrbios psiquiátricos ou neurológicos diagnosticados em saúde pública no mundo.

Disfunção Mental	Prevalência (milhões de pessoas)	Classificação	Características Gerais;
<u>Distúrbios Afetivos</u> - Depressão - Mania	340	<ul style="list-style-type: none"> • Bipolares; • Unipolares; 	Perda da motivação, alterações do humor, distúrbios do sono, alucinações, etc.;
<u>Transtornos da Ansiedade</u>	400	<ul style="list-style-type: none"> • Pânico; • Fobias; • Obsessivo-compulsivo; • Estresse pós-traumático; • Ansiedade generalizada; 	Distúrbios do sono, dificuldade de concentração, irritabilidade, palpitações, ulcerações gástricas, depressão da resposta imune, etc.;
<u>Esquizofrenia</u>	45		Alucinações, ilusões, distúrbios do pensamento, depressão, isolamento social, etc.;
<u>Demência</u>	22	<ul style="list-style-type: none"> • Alzheimer's; • Doenças cerebrovasculares; • Parkinson; • Creutzfeld-Jacob; 	Perda da memória, compreensão, capacidade de aprendizado, dificuldade de verbalização, além da perda da habilidade de pensar e calcular;
<u>Epilepsia</u>	130	<ul style="list-style-type: none"> • Parciais; • Generalizadas; • Não classificadas; 	Alucinações, descarga autônoma, alterações do humor, afastamento social, etc.;

Fonte: WHO, 2000.

Atualmente, a clínica moderna dispõe de um grande arsenal de medicamentos, na sua maioria sintéticos, distribuídos em diversas classes, cujos mecanismos de ação permitem o tratamento de inúmeros distúrbios psiquiátricos. Em 1991, os medicamentos com atividade no sistema nervoso central respondiam pelo segundo maior percentual de consumo nos EUA (21.7%) e pelo primeiro no Brasil (20,8%) dentre as classes de medicamentos comercializados (Gerez, 1993).

Contudo, a iatrogênese, o alto custo e a falta de eficácia de alguns fármacos convencionais (alopáticos), concomitante à valorização da medicina dita alternativa ou complementar, vem forçando a utilização clínica de plantas medicinais e fitoterápicos na terapêutica de disfunções orgânicas, dentre essas, as doenças mentais (Gottlieb e Kaplan, 1993; WHO, 2000).

A Europa é bastante representativa do mercado global de fitoterápicos, respondendo por aproximadamente metade das vendas registradas no mundo. Naquela região, os medicamentos originados de plantas e que apresentam atividade hipnótico/sedativa são responsáveis por 9% (Ferreira, 1998) do total de vendas desses produtos. Na Alemanha, o maior mercado europeu de fitofármacos, o uso de fitoterápicos no tratamento da insônia é da ordem de 25%. Vale lembrar, porém, que o mercado de fármacos com atividade no sistema nervoso central não é restrito aos medicamentos com atividade hipnótico/sedativa.

Disfunções ao nível do SNC são a causa de inúmeros distúrbios psiquiátricos que afligem a humanidade. Assim é importante que novas drogas sejam descobertas para o tratamento dessas disfunções. As plantas medicinais podem ser úteis nesse contexto, seja através de formulações galênicas seja como fonte de novas moléculas líderes.

ESPÉCIE BOTÂNICA

Stachytarpheta cayennensis Vahl

No presente trabalho utilizamos como material de estudo a *Stachytarpheta cayennensis* Vahl (Fig. 3), uma das espécies incluídas no Programa de Plantas Medicinais (PPPM) da hoje extinta Central de Medicamentos (CEME) do Ministério da Saúde (MS). O gervão-roxo, como é conhecido popularmente devido à cor roxa de suas flores, teve seu nome científico originário do grego: ***Stachytarpheta***, de *Stachys* = **espiga** + *tarphos* = **denso** e ***cayennensis*** de Cayenne, capital da Guiana Francesa (Mesia, 1998e);

Família: Verbenaceae.

Sinonímia Científica: *S. cajanensis* Vahl, *S. cayennensis* Schauer, *Valerianoides cayennense* Kuntze, *Verbena cayennensis* Rich, *S. dyctotoma* (Balbach, 1986; BRASIL, 1996).

Sinonímia Popular: gervão, gervão roxo, gervão-folha-de-verônica, ogervão, orgibão, gerbão, rinchão, verbena, verbena falsa, verbena azul, chá brasileiro, vassourinha-de-botão e aguará-podá (Balbach, 1986; Cruz, 1979; The rainforest plant database, 2000).



FIGURA 3 – *Stachytarpheta cayennensis* Vahl.

Descrição Botânica: Arbusto regular, até 2,5 m de altura, muito ramificado e com os ramos ligeiramente pilosos ou glabrescentes; folhas opostas, ovadas até

elípticas, obtusas ou arredondadas no ápice e estreitando-se para a base, mais ou menos decurrentes sobre o pecíolo, até 7 cm de comprimento, serradas ou cuneado-serradas escabrosas na página superior e esparso-pubescente sobre as nervuras na página inferior, flores azul-pálido ou roxas, de 5 mm, dispostas em espigas flexuosas de 25 cm ou menos; brácteas estreito-lineares, acuminado-setáceas; cálice curto, comprimido, 4-denteado (Pio Correa, 1984).

Usos Etnomédicos: A família Verbenaceae compreende 100 gêneros distribuídos nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo (Joly, 1991). O gênero *Stachytarpheta* é um gênero pantropical, alcançando ampla distribuição pelas Américas do Sul (Fig. 4) e Central (Fig. 5). O uso medicinal das espécies desse gênero é amplo na Ásia, Caribe, África, América Central, Europa e América do Sul (Hoehne, 1939).

A medicina popular tem utilizado com frequência inúmeras de suas espécies. No leste da África, a *S. mutabilis* (Jaq) Vahl é indicada como analgésico, antidiarréico e nas infecções oculares. Na Índia, a *S. indica* é utilizada na inflamação reumática, febre, diarreia e, topicamente, nas feridas purulentas. Na região do Caribe, Cuba e México, algumas espécies de *Stachytarpheta* são utilizadas como antipiréticas e antidiarréicas (Chopra e cols., 1956; De Luca, 1983; De Luca, 1980; Subramaniam e Ramachadran, 1974).

No Panamá, a *S. jamaicensis* é usada pela população como antipirética, vermífuga, aplicada em enfermidades renais, hepáticas, reumáticas e espasmos. Na América Central, é utilizada popularmente no tratamento da asma, bronquite, resfriados, eczemas e febre e usada como anti-parasitária e abortiva. A *S.*

jamaicensis é ainda utilizada na Nicarágua no tratamento do resfriado, tosse e infecções (Gupta, 1995; Barrett, 1997).

A *S. cayennensis* é utilizada no tratamento da asma, bronquite e como vermífugo nas Bahamas; como emenagogo, sedativa estomáquica e emética no Haiti; contra inflamação, reumatismo, febre, ulcerações da pele e desinteria na Índia; como depurativa, purgativa, vermífuga, colírio, antipirética e antiarrítmica em Trinidad Tobago (CBCG Botanical Databases, 2000; The rainforest plant database, 2000).

No Brasil, a *S. cayennensis* possui ampla distribuição geográfica, sendo encontrada no Pará, Amazonas, Bahia, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, sendo consagrada por suas propriedades medicinais (Caitano, 1996b; Cruz, 1965).

O chá e a tintura de suas folhas são usados no tratamento de estados gripais, apresentando ação febrífuga, antitussígena, antitérmica e sudorípara (Balbach, 1986; Caitano, 1996b). O chá da raiz e das folhas é também utilizado como antidiarréico, anti-hemorroidal, anti-emético, anti-catarral, diurético, contra a rouquidão, hepatite, artrite, amebíase e bronquite. Ao suco cru das folhas, usado externamente, é atribuída propriedade cicatrizante (Balbach, 1986; Muiratinga's, 2000)

No Rio Grande do Sul, a *S. cayennensis* é utilizada como antiinflamatória, diurética e analgésica (Alice e cols., 1991). No Espírito Santo, é usada por mulheres usuárias do Sistema Único de Saúde (SUS) no tratamento de disfunções do aparelho digestivo (Sacramento e cols., 1996), sendo atribuídas ações tônica das funções gastrointestinais, hepática e dispéptica às suas preparações (Balbach, 1986; Cruz, 1979; Cruz, 1965; Michalak, 1997).

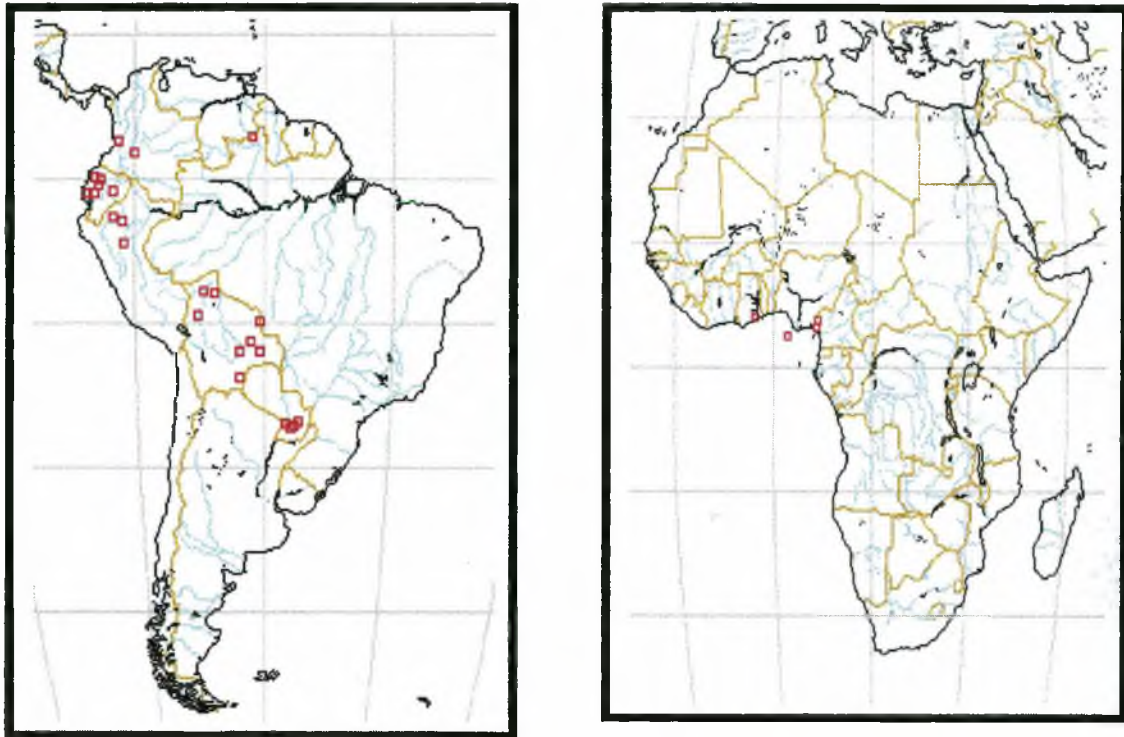


FIGURA 4 – Distribuição das plantas do gênero *Stachytarpheta* nas Américas do Sul e Central.

Fonte: Missouri Botanical Garden - w³TROPICOS 2000

Fitoquímica: Da *S. cayennensis* se tem relatado a presença dos seguintes compostos: polifenóis (Duarte e cols., 1996), ácido salicílico, citral, óleos essenciais, eugenol (CBCG Botanical Databases, 2000), 6-hidroxluteolol-7-glucuronídio, apigenol-7-glucuronídio, alfa-espiasterol, ácido butírico, ácido clorogênico, dopamina, dotriacontano, friedelino, hentriacontano, hispidulina, ipoiamida, luteolol-7-glucuronídio, nonacosano, pentriacontano, escutelareína, espiasterol, estachytarphina, estigmasterol, tarfetalina, tetratriacontano, triacotano, ácido ursólico (The Rainforest Plant Database, 2000), iridóides (Mesia, 1998) e um fenilpropanóide, o verbascosídeo (Caitano e cols., 1996a; Xavier e Soares, 1993).

Farmacologia e atividade biológica: Até hoje, das cerca de 50 espécies do gênero *Stachytarpheta* identificadas no mundo todo, apenas algumas foram estudadas sob o ponto de vista químico e farmacológico.

Em bioensaios *in vitro*, o extrato aquoso (EA) de *S. jamaicensis* apresentou um potencial inativador de nemátodos, paralisando a larva filariforme de *Strongyloides stercoralis* (Robinson e cols., 1990) e atividade inseticida e antibiótica contra várias cepas (Chariandy e cols., 1999). Rodrigues (1996) relata uma redução da atividade motora e reação de alarme, ataxia, sedação, analgesia, anestesia, ptose, piloereção e redução significativa da temperatura corpórea de animais tratados com o extrato aquoso de *S. jamaicensis*. As mesmas propriedades foram observadas com o uso do extrato alcoólico da espécie (Rodrigues, 1992). A *S. jamaicensis* apresentou ainda uma atividade estimulatória do índice de lesão e número de úlceras gástricas induzidas por estresse (Alvarez e cols., 1994).

Investigações farmacológicas conduzidas com diferentes extratos obtidos da *S. cayennensis* e com a ipolamida, um composto iridóide isolado dessa planta, tem mostrado atividades analgésica e antiinflamatória em bioensaios (Alice e cols., 1991; Fraga e cols., 1998; Mesia e cols., 1998a; Mesia e cols., 1996a; Schapoval e cols., 1998).

O EA apresentou uma atividade inibitória da secreção de ácido gástrico *in vivo* e *in vitro* (Mesia e cols., 1998b; Mesia e cols., 1997; Mesia e Lapa, 1992) e proteção contra lesões gástricas induzidas por etanol (Mesia e Lapa, 1992), indometacina e estresse por imobilização no frio (Mesia e Lapa 1994). A atividade anti-úlceras parece envolver uma inibição da secreção ácida gástrica e estar relacionada à presença de ipolamida (Mesia e cols., 1998c; Mesia e cols., 1998d), composto responsável pela inibição da ligação de AMPc pela proteína-quinase dependente de AMPc (Mesia e cols., 1996b). Além disso, uma atividade laxativa do EA de *S. cayennensis* foi também observada (Mesia, 1997). Porém, uma atividade anti-diarreica é atribuída à planta (Almeida e cols., 1995).

Recentemente, propriedades hipotensoras, dependentes da inibição do influxo de cálcio através de canais de cálcio do tipo L, têm sido atribuídas ao EA e a frações semipurificadas de *S. cayennensis* (Battistini e cols., 2000a; Battistini e cols., 2000b; Carvalho e cols., 1997; Evans e cols., 1999).

Além disso, uma propriedade depressora do sistema nervoso central de camundongos, também foi relatada para o EA (Mesia e cols., 1997; Mesia e Lapa, 1992), porém essa propriedade não se mostra consistente (Mesia e cols., 1998a).

OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos do extrato aquoso (EA) de *Stachytarpheta cayennensis* no sistema nervoso central de camundongos, procurando avaliar uma possível atividade central da preparação que pudesse contribuir para as atividades farmacológicas já descritas na literatura como a antiulcerogênica, a hipotensora e a analgésica.

Em complementação, procurou-se também avaliar as possíveis alterações farmacocinéticas promovidas em animais tratados com *S. cayennensis* que pudessem levar a resultados falso-positivos na avaliação do efeito central do EA.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados camundongos Swiss (albinos) fêmeas, pesando entre 25 e 35 g, e ratos Wistar machos, pesando entre 250 e 330 g, ambos com 3 meses de idade, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina e mantidos no Biotério Setorial da Coordenadoria Especial de Farmacologia. Os animais foram mantidos sob condições controladas de temperatura (21 ± 2 °C) e iluminação (ciclo claro/escuro de 12 h, com luz ligada às 7:00 h), com livre acesso à água e ração, exceto durante a realização dos experimentos. Os protocolos experimentais foram conduzidos entre as 8:00 e 16:00 h e os animais permaneceram no Laboratório de Neurofarmacologia por um período de 7 dias para habituação antes dos testes farmacológicos.

Todos os animais foram utilizados somente uma vez, sendo sacrificados por anestesia etérea profunda após o término dos testes farmacológicos.

O presente trabalho envolveu procedimentos experimentais delineados de maneira tal que o sofrimento dos animais utilizados fosse minimizado. Em adição, procuramos utilizar um tamanho de amostra mínimo e adequado para as análises estatísticas e extrair o máximo de informações relevantes para o cumprimento dos objetivos propostos, de acordo com os procedimentos éticos estabelecidos na Assembléia Geral da SBNeC, Caxambu (1992).

Drogas, sais e solventes:

Apomorfina, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA, agonista dopaminérgico (Costall e cols., 1978)

Cloreto de sódio, Quimibrás Indústrias Químicas S.A., Rio de Janeiro, Brasil;

Diazepam, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA, agonista GABAérgico (Carlini e Burgos, 1979);

EDTA, Quimibrás Indústrias Químicas S.A., Rio de Janeiro, Brasil;

Éter etílico, Quimibrás Indústrias Químicas S.A., Rio de Janeiro, Brasil, anestésico volátil (Katzung, 1994);

Pentilenotetrazol (PTZ), Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA, antagonista GABAérgico (Melo e cols., 1986);

Pentobarbital sódico, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA, agonista GABAérgico não seletivo (Alpern e McIntyre, 1985);

Substrato da Fosfatase Alcalina, Labtest Diagnóstica, Minas Gerais, Brasil (Labtest Diagnóstica, 2000a);

Substrato da Gama Glutamil Transferase, Labtest Diagnóstica, Minas Gerais, Brasil (Labtest Diagnóstica, 2000d);

Substrato da Transaminase Oxalacética, Labtest Diagnóstica, Minas Gerais, Brasil (Labtest Diagnóstica, 2000c);

Substrato da Transaminase Pirúvica, Labtest Diagnóstica, Minas Gerais, Brasil (Labtest Diagnóstica, 2000b);

Material Botânico

A *Stachytarpheta cayennensis* Vahl utilizada em nossos estudos foi proveniente do Centro de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agronômicas (CPQBA) de Campinas, sendo fornecida pelos Profs. Dr. Pedro Mellilo Magalhães e Dr. Ileo Montanari. Uma amostra da espécie está catalogada no Herbário de Plantas Medicinais do Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) sob o número 0189.

Obtenção do Extrato Vegetal

O material foi coletado, sendo seco e pulverizado em moinho mecânico. A preparação do extrato aquoso (EA) seguiu indicação popular, sendo obtido por extração do pó das folhas em água fervente (chá 2,5%). O infuso foi mantido sobre placa quente a 73 °C e agitação periódica durante 30 min. Após filtração, o extrato foi concentrado a vácuo (45 °C) até 100 mL e imediatamente liofilizado. O EA liofilizado foi armazenado em frascos de vidro sob refrigeração.

Administração das Drogas

O EA nas doses de 0,25; 0,5 e 1 g/kg foi solubilizado em água de torneira e administrado por via intragástrica aos animais experimentais 3 h antes dos testes farmacológicos, para o tratamento agudo, mantendo-se sempre o volume de 10 mL para cada quilo de peso do animal. Os mesmos procedimentos foram adotados para os animais do grupo controle, porém estes receberam somente água de torneira.

Durante o tratamento repetido (tratamento durante 7 dias consecutivos), o EA ou a água foram administrados pontualmente às 09:00 h da manhã, sendo

que no último dia de tratamento 3 h após a administração da água ou EA de *S. cayennensis* Vahl. realizou-se os protocolos experimentais.

A apomorfina (10 mg/kg) e pentobarbital sódico (50 mg/kg), utilizados em alguns procedimentos experimentais, foram administrados por via intraperitoneal (i.p.), enquanto o pentilenotetrazol (80 mg/kg) foi administrado por via subcutânea (s.c.). O éter etílico (5 mL) foi administrado por via pulmonar, numa câmara de saturação.

O diazepam (1 mg/kg), a imipramina (15 mg/kg), o haloperidol (1 mg/kg) e a fenitoína (15 mg/kg) foram utilizadas como controle positivo em alguns protocolos experimentais, sendo administrados por via i.p., 1 h antes dos testes farmacológicos.

Procedimentos experimentais

O campo da Farmacologia Comportamental usa conceitos e técnicas derivados tanto da Farmacologia quanto da Psicologia para estudar as interações entre drogas e comportamentos. Alguns estudos de Farmacologia Comportamental investigam processos comportamentais ou psicológicos que são alterados pela administração de drogas. Entre estes estão os estudos que determinam quais drogas (e que doses) alteram a atividade locomotora, o comportamento alimentar, sexual e a agressão, por exemplo. Outros estudos de Farmacologia Comportamental dizem mais respeito ao entendimento dos substratos neurobiológicos que medeiam efeitos comportamentais específicos. A integração das abordagens comportamentais ou psicológicas com a investigação neurobiológica provê a base para o estudo sistemático das ações de drogas pertinentes aos seus efeitos clínicos em humanos.

O advento de medicamentos com ação sobre processos do SNC como, por exemplo, as drogas que aliviam de modo relativamente seletivo certos sintomas da esquizofrenia, da ansiedade e da depressão, estimularam não só o seu uso clínico, como também forneceram informações úteis para a validação de modelos animais. Estes, por sua vez, permitiram a investigação de novos compostos e um melhor entendimento dos processos fisiopatológicos e neuroquímicos envolvidos. O termo *validade*, em farmacologia experimental, descreve o relacionamento entre os resultados de um experimento comportamental e as observações clínicas do distúrbio modelado. Há três níveis de validade: a preditiva, a analógica e a teórica. A *validade preditiva* de um modelo é avaliada com base na sua capacidade de diferenciar entre drogas que são, ou não, clinicamente eficazes na patologia humana que está sendo modelada. Desta forma, é possível administrar o mesmo composto tanto em pacientes como em animais de laboratório, estabelecendo correlações entre os efeitos clínicos e as alterações comportamentais verificadas nos diferentes modelos.

Entretanto, a mera previsibilidade da resposta farmacológica não deve ser o único critério de validade de um modelo de psicopatologia, pois o que pode estar ocorrendo - e efetivamente ocorre em muitos casos - é que o teste envolve o mesmo mecanismo de ação básico responsável pelo efeito clínico, porém não mobiliza os mesmos processos biológicos que fundamentam os sintomas clínicos. Assim, para se estudar os mecanismos fisiopatogênicos, um modelo animal deve satisfazer a outros critérios, além da previsibilidade da resposta farmacológica. Geralmente são aplicados os critérios de semelhança ou analogia, e de validade teórica ou homologia. No primeiro caso, as condições experimentais e os comportamentos observados no teste são de alguma forma parecidos com as

circunstâncias determinantes dos sintomas e suas manifestações clínicas. Um exemplo disso é o uso de alguns modelos experimentais de depressão como o 'desamparo aprendido' ("learned helplessness"), em que o animal, após receber choques elétricos nas patas, apresenta-se apático e perde a capacidade de aprender novas tarefas, comportamentos que lembram muito aqueles encontrados na depressão clínica, de tal forma que o teste parece satisfazer ao critério de *validade analógica* ("face validity"). A *validade analógica* de um experimento animal é, portanto, avaliada com base nas qualidades comportamentais e farmacológicas cujas semelhanças com o distúrbio humano modelado podem ser demonstradas. Quanto à *validade teórica* ("construct validity"), o requisito é o de que os mesmos processos psicobiológicos responsáveis pela etiologia e fisiopatologia dos sintomas clínicos estejam atuando no modelo. Isto é, a *validade teórica* de um modelo é obtida pela determinação de um relacionamento teórico direto à doença humana que está sendo modelada. Os comportamentos nos ensaios e nos distúrbios devem ser homólogos (com as mesmas origens psicológicas e neurofisiológicas), mais do que análogos (similares na superfície, mas com diferentes mecanismos básicos). Por exemplo, nos modelos animais de esquizofrenia, como o comportamento estereotipado em roedores, há um aumento da atividade dopaminérgica á semelhança do que ocorre na patologia humana. No entanto, dadas as atuais limitações dos conhecimentos de ambos os termos da equação, estas exigências são difíceis de serem atendidas. Apesar disto, a busca da homologia pode levar a novas hipóteses, que poderão levar a um avanço no conhecimento dos mecanismos causadores das doenças mentais.

O uso de modelos experimentais em diversas disciplinas médicas é bastante difundido, desde a introdução da patologia experimental por Claude Bernard, no século passado. No entanto, na área da Psiquiatria, e, portanto, envolvendo o estudo do sistema nervoso central, esse emprego é bem mais recente. Isso se deve principalmente ao fato de que os problemas de abordagem nessa área são muito maiores e complexos. Um exemplo claro disso são os distúrbios de pensamento, que não podem ser reproduzidos em animais de laboratório. Os primeiros modelos animais de psicopatologias foram criados nos anos 50. Em razão disso, derivaram dos métodos então utilizados nos laboratórios de Psicologia Experimental, que visavam sobretudo estudar os princípios básicos da aprendizagem. Mais recentemente, passaram a predominar modelos baseados em conhecimentos etológicos, que utilizam comportamentos adaptados ao nicho ecológico de cada espécie através de mecanismos evolutivos. Esta tendência implica numa visão de Zoologia Comparada, uma vez que visa estabelecer a correspondência funcional ou homologia entre comportamentos aparentemente diferentes de espécies também diferentes (Lapa & De Lima, 1998; Barrett & Miczeck, 1995; Essman & Lucki, 1993; Gayer & Markou, 1995; Graeff & Brandão, 1993).

Assim, o objetivo da neurofarmacologia, atribuindo-se do uso de modelos animais, pode ser dividido em (1) estudar os efeitos comportamentais das drogas para elucidar seus mecanismos de ação bem como (2) usar drogas como ferramentas para investigar os processos neuroquímicos que medeiam o comportamento. Para tal, no presente estudo testes validados e amplamente aceitos foram usados, como descritos a seguir.

Observação geral

Numa primeira abordagem, o teste de observação geral, descrito abaixo, indica diferentes funções (motoras, sensoriais, fisiológicas, ...) que possam estar alteradas pelo tratamento com uma determinada substância.

Os camundongos foram mantidos em grupos de 4 animais por caixa e, após o tratamento agudo com o EA ou água, foram observados a cada 60 min durante 6 h consecutivas e após 24 e 48 h.

Os parâmetros de observação foram a presença ou ausência de contorções abdominais, pelos arrepiados, ptose palpebral, tremores, secreções (saliva, cromadocriorréia, brônquica) e ocorrência de convulsões, bem como a consistência das fezes, volume de urina, alteração na movimentação espontânea, hipotermia, tônus muscular e a ocorrência de mortes (Farnsworth e cols., 1966).

Comportamento estereotipado

Existem várias evidências indicando que drogas produzem diferentes efeitos comportamentais mediados por múltiplos receptores dopaminérgicos localizados em distintas estruturas cerebrais. Os estudos farmacológicos controlados pelo sistema dopaminérgico utilizam principalmente dois testes: a medida da atividade locomotora horizontal e o comportamento estereotipado. Ambos os testes permitem uma avaliação fácil e fidedigna para detecção de efeitos de manipulações farmacológicas dos sistemas dopaminérgicos cerebrais. Agonistas dopaminérgicos aumentam a atividade locomotora e produzem comportamento estereotipado, efeitos esses bloqueados por antagonistas dos receptores dopaminérgicos (Cabib e Puglisi-Allegra, 1988).

Em camundongos, o comportamento estereotipado traduz-se pelo comportamento de subir (*climbing behavior*). Esse comportamento é inato em roedores, havendo evidências substanciais que as sinapses dopaminérgicas da área nigroestriatal constituem o principal sítio dessa atividade central, expressa comportamentalmente pelo ato de subir as grades da gaiola de arame (Pinsky e cols., 1982).

O protocolo experimental foi realizado conforme descrito a seguir. Transcorridas 3h após a administração do EA (0,25 – 1 g/kg) ou água, os camundongos foram tratados com cloridrato de apomorfina (10 mg/kg) e mantidos individualmente em gaiolas metálicas para a avaliação comportamental. A avaliação deu-se baseada em uma escala de quatro pontos, onde a atividade de subida do animal pela gaiola recebeu escores entre 0 e 3. Assim, quando o animal manteve as quatro patas no chão da gaiola recebeu escore 0 (zero). Quando manteve somente as patas dianteiras na lateral da gaiola a escala de estereotipia correspondeu ao escore 1. As quatro patas na lateral da gaiola intermitente ou constantemente corresponderam aos escores 2 e 3, respectivamente.

O comportamento foi observado por 30 min, sendo que os registros comportamentais aconteceram em intervalos de 5 min (total de 6 registros). O índice de estereotipia de cada camundongo deu-se através da soma das escalas registradas nos diversos intervalos (Costall e cols., 1978; Owen, 1979).

Atividade locomotora

O nível de atividade geral dos animais dá-nos uma medida confiável dos efeitos de várias drogas quando avaliados por escalas subjetivas numa

observação direta ou por aparelho automatizado com células fotoelétricas. Essa última abordagem evita a interferência do experimentador, fornecendo um monitoramento quase que contínuo (Beninger e cols., 1985).

As medidas da atividade espontânea têm sido freqüentemente usadas para avaliar efeitos comportamentais de drogas ou outras manipulações. Manipulações dos sistemas dopaminérgicos, noradrenérgicos e serotoninérgicos levam a alterações na atividade locomotora espontânea (Tucker e File, 1985; Weiss e cols., 1986; Speciale e cols., 1986; Heilor e Tecott, 2000)

O protocolo experimental foi realizado conforme descrito a seguir. Transcorridas 2h após o tratamento oral dos animais com EA (0,25 – 1,0 g/kg) ou água, os camundongos foram colocados em caixas automatizadas para medir atividade espontânea (caixa de movimentação). A caixa de movimentação é uma arena (50 cm x 30 cm x 30 cm) com paredes de madeira e chão gradeado, com 03 células fotoelétricas (situadas a 2 cm do solo e dispostas horizontalmente numa parede lateral do aparelho), que registram automaticamente a movimentação (ambulação) dos animais cada vez que esses cruzam os feixes luminosos que incidem sobre essas células.

Os testes farmacológicos foram realizados sob luz vermelha com aproximadamente 15 W de potência. A atividade motora foi considerada diretamente proporcional ao número de vezes que o animal interrompeu a incidência de luz nas células fotoelétricas dentro de um período de tempo de 1h (Carlini e Burgos, 1979; de Angelis, 1979; Reiter e Macphaiz, 1979).

Os animais foram submetidos à caixa de movimentação duas horas após os tratamentos, a fim de se evitar uma habituação desses ao aparelho em um momento onde não teríamos a droga no seu pico de concentração, o que

prejudicaria a avaliação do EA na atividade locomotora. Por outro lado, sendo os outros testes de curta duração (5 min em média) feitos 3h após o tratamento, os animais são avaliados na caixa de movimentação por 1h dentro do mesmo período temporal.

Nado forçado

Os meios ideais para demonstrar uma ação antidepressiva presume o estudo de comportamento semelhantes no animal e no homem. Três testes parecem adequar-se a esse propósito: (1) a síndrome da separação em macaco *Rhesus*, o teste do nado forçado e o desamparo aprendido. Entre esses, somente o teste de Porsolt (nado forçado) é particularmente simples e barato para a busca de novas moléculas. Nesse teste, animais colocados individualmente em recipientes para nadar mostram inicialmente um período de atividade bastante intensa, seguido de um período de imobilidade, quando apenas movimentos mínimos para manter-se na superfície são feitos. Drogas com possível atividade antidepressiva reduzem esse tempo de imobilidade. O teste do nado forçado apresenta sensibilidade para drogas que atuam nos sistemas noradrenérgicos e serotoninérgicos (Bourin, 1990), embora outras drogas possam produzir resultados falso-positivos quando administradas agudamente (Kitada e cols., 1981).

Porsolt e cols. (1978), observaram que o tratamento agudo com antidepressivos clássicos não produzia essa redução do tempo de imobilidade, enquanto o tratamento repetido o fazia. Esses autores sugeriram um tratamento sub-agudo (3 doses em 24 h) promovia um efeito antidepressivo semelhante ao observado com o tratamento repetido.

O protocolo experimental foi realizado conforme descrito a seguir. Os animais utilizados nesse protocolo experimental foram submetidos à um pré-teste (estresse de natação por 15 min) 24 h antes da realização do teste farmacológico. Após o pré-teste, os animais foram tratados com as respectivas doses nos tempos de 1, 18 e 23 h, sendo, então, uma hora após a última administração submetidos à avaliação da atividade antidepressiva do EA (Borsini e cols., 1989; Kitada e cols., 1981; Porsolt e cols., 1977). Para tal os camundongos foram colocados individualmente em recipientes plásticos de 25 cm de altura e 15 cm de diâmetro, contendo 17 cm de água, mantida à temperatura de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Como parâmetro da atividade antidepressiva, registrou-se o tempo de imobilidade durante 5 min consecutivos à colocação do animal na água, sendo os animais considerados imóveis quando permaneciam parados, realizando somente movimentos necessários para se manterem flutuando na superfície da água.

Labirinto em cruz elevado (LCE)

Muito do conhecimento existente sobre a ansiedade humana foi obtido pela experimentação animal. Através do emprego de modelos animais, procura-se reproduzir em laboratório determinados aspectos da sintomatologia, da etiologia ou do tratamento da ansiedade (Zangrossi Jr., 1995). Até a década de 70 os paradigmas experimentais mais empregados no estudo da ansiedade, como o teste de Geller-Seifter, os testes de esquiva ativa e passiva, o sobressalto acústico potenciado, entre outros, envolviam situações em que era necessário o condicionamento dos animais, empregando-se para tal estímulos aversivos (Rodgers *et al.*, 1997). A partir da década de 80, uma maior atenção passou a ser dada aos modelos animais de ansiedade etologicamente fundamentados. Esses

modelos se baseiam nas respostas inatas de medo de diferentes espécies animais diante de situações naturalmente aversivas como lugares novos, confronto com um intruso e iluminação intensa (Pellow *et al.*, 1985; Lister, 1987).

Entre os modelos de ansiedade etologicamente fundamentados, e de grande aceitação atualmente, encontra-se o labirinto em cruz elevado (LCE). O modelo experimental do LCE foi validado para roedores e tem sido extensivamente usado na descoberta de agentes ansiolíticos e na investigação das bases neuroquímicas da ansiedade (Hogg, 1996). O modelo é rápido, simples, pouco dispendioso e mostra-se altamente sensível tanto a efeitos de agentes ansiolíticos como a ansiogênicos (Handley e Mithani, 1984; Lister, 1990). Além disso, em alguns laboratórios esse teste tem se mostrado capaz para detectar possíveis compostos ansiolíticos que não mostram resultados consistentes em modelos animais clássicos de ansiedade, ou seja, naqueles baseados no condicionamento aversivo (Dawson e Tricklebank, 1995).

Montgomery (1955) foi o pioneiro desse modelo, desenvolvendo um labirinto elevado no qual a intensidade do medo natural induzido poderia ser medida pela variação da proporção de exploração (comportamento exploratório) entre os braços abertos e fechados. Como consequência, os ratos controles tendem a evitar os braços abertos e permanecem por mais tempo nos braços fechados do LCE (Cruz *et al.*, 1994). De uma forma geral, drogas ansiolíticas aumentam, enquanto agentes ansiogênicos diminuem a frequência de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos do LCE. Quando confinados nos braços abertos, os ratos mostram manifestações comportamentais e fisiológicas de medo, tais como congelamento, defecação e aumento de corticosteróides plasmáticos (Pellow *et al.*, 1985). Trabalhos recentes indicam que espaços

abertos ou, mais especificamente, a impossibilidade de roedores executarem a tigmotaxia nos braços abertos, ao invés da altura, é a principal causa do medo nesta situação experimental (Treit *et al.*, 1993).

O LCE consiste de dois braços abertos opostos (30 cm X 5 cm) cruzados em ângulo reto com outros dois braços das mesmas dimensões cercadas por uma parede de 25 cm de altura (braços fechados). Os quatro braços delimitam uma área central de 5 x 5 cm, designada como plataforma central. Todo o aparelho foi confeccionado em acrílico, sendo as paredes dos braços fechados feitos em acrílico transparente e o assoalho em acrílico preto. O aparelho está elevado a 45 cm do nível do chão. Para evitar a queda dos animais, uma borda de 0,25 cm de altura cerca os braços abertos.

Como procedimento geral, os camundongos foram pré tratados com o EA (0,25 - 1 g/kg – v.o.) ou água, e, transcorridas 3h do tratamento, colocados individualmente na plataforma central com a cabeça voltada para um dos braços fechados e o seu comportamento observado por 5 min. A avaliação dos parâmetros comportamentais deu-se em uma sala com luz vermelha (15 W) e, após o teste de cada animal, o LCE foi limpo com solução etanol 10% e seco com papel toalha (Pellow e cols., 1985; Rodgers e cols., 1997).

As medidas comportamentais registradas no LCE foram a frequência de entradas e o tempo despendido nos braços abertos, (obtidos, respectivamente, pela relação de frequência de entradas e tempo despendido nos braços abertos pelo número total de entradas e tempo total despendido nos braços do LCE x 100), e a frequência de entrada nos braços fechados. Foram também registradas medidas de avaliação etológica como o número de imersões de cabeça, postura

de avaliação de risco, levantamentos, auto-limpeza e número de bolos fecais (Rodgers e cols., 1997).

Admitiu-se como entradas em um dos braços do LCE quando o animal colocou as quatro patas dentro do respectivo braço. O comportamento de imersão de cabeça foi registrado quando o animal explorou a área abaixo da plataforma do LCE, e a avaliação de risco quando o animal, mantendo as patas traseiras fixas no chão do aparelho, estirou os membros dianteiros. Entendeu-se por comportamento de levantar a manutenção apenas as patas traseira no chão do LCE, com as patas dianteiras apoiadas na parede do aparelho. Quando os camundongos lambiam seus membros ou pelo, registrou-se como atividades de auto-limpeza.

Rota-rod

Vários métodos são descritos na literatura para detectar neurotoxicidade. Muitos requerem um observador experiente, não são úteis para ratos e camundongos, não detectam alterações mínimas indicativas de neurotoxicidade e/ou apresentam resultados falso-positivos. O aparelho de rota-rod proposto por Dunham e Miya (1957), resolve esses problemas e tem valor potencial para testar várias tipos de drogas como relaxantes musculares esqueléticos, depressores do sistema nervoso central e convulsivantes.

O protocolo experimental foi realizado conforme descrito a seguir. Transcorridas 3h após o tratamento com o EA ou água, os camundongos foram colocados no aparelho de rota-rod por 60 s. O rota-rod é constituído por uma barra giratória com diâmetro de 2,5 cm e 60 cm de comprimento, girando a 12 rpm. A barra está localizada na posição horizontal a uma altura de 40 cm do nível

do chão. Como parâmetros registrou-se o número de quedas e o tempo de permanência dos animais na barra giratória. A fim de se evitar resultados falso positivos, selecionou-se, através de um pré-teste 24hs antes da realização do protocolo farmacológico, animais que permaneciam sobre a barra giratória por um período de 120 s em, pelo menos, 2 tentativas consecutivas (Carlini e Burgos, 1979; Dunham e Miya, 1956).

Convulsão

Numa tentativa de melhorar os conhecimentos acerca da epilepsia no homem, as pesquisas se dirigiram para o reino animal. A relevância de um modelo experimental é determinado pelo grau em que ele serve como testemunha do fenômeno natural. Ainda que anualmente a literatura científica esteja repleta de novos modelos para explicar esta ou aquela forma de epilepsia, poucos são aqueles que resistem a um exame rigoroso e à prova do tempo (Mello e cols., 1986).

A pesquisa experimental em epilepsia e drogas antiepiléticas tem sido feita principalmente em camundongos e ratos cujas crises são induzidas química ou eletricamente. Embora esses modelos em roedores o eletrochoque máximo (ECM) e o PTZ sejam úteis na identificação de drogas com ação anticonvulsante, eles obviamente, não são muito semelhantes à epilepsia humana, representando mais modelo de indução de uma simples crise epilética do que a epilepsia (Loscher e Schmidt, 1988).

Convulsões induzidas quimicamente por pentilenotetrazol

O modelo de convulsão induzido por pentilenotetrazol (PTZ) tem sido utilizado no estudo das vias neuroanatômicas envolvidas no fenômeno epilético,

na pesquisa de anticonvulsivantes, e na avaliação dos diversos sistemas de neurotransmissão e de suas funções na epilepsia (para revisão ver Mello e cols., 1986).

O PTZ inicialmente produz espasmos mioclônicos que tornam-se subsequente mantidos e podem levar a uma crise tônico clônico generalizada. Ao nível sináptico o PTZ interage com o complexo receptor GABA_A, possivelmente no sítio de ligação da picrotoxina.

O PTZ foi introduzido como um teste de *screening* para anticonvulsivante em parte porque a etossuximida (uma droga anti-ausência) que é efetiva contra as crises induzidas pelo PTZ, não altera as crises induzidas pelo ECM. Em contraste, algumas drogas efetivas contra o ECM, como a fenitoína e carbamazepina, não são eficazes contra as crises do PTZ. Assim, tornou-se prática comum presumir que drogas efetivas contra as crises induzidas por PTZ seriam terapias anti-ausência em potencial, enquanto drogas eficazes contra ECM, seriam terapias potenciais para crises tônico-clônicas parciais (Deyn e cols., 1992).

O protocolo experimental foi realizado conforme descrito a seguir. Transcorridas 3h após a administração oral do EA (0,25 – 1 g/kg) ou água, os camundongos foram tratados com pentilenotetrazol (80 mg/kg) e mantidos individualmente em caixas plásticas (30 cm X 15 cm) para observação das convulsões. O tempo para manifestação da primeira convulsão (latência), assim como a duração e a incidência das convulsões foram registrados até 30 min após a administração de PTZ (Löscher e Schmidt, 1988; Swinyard e cols., 1989; Swinyard e cols., 1952).

Foi estabelecido como episódio convulsivo quando se observou espasmos mioclônicos com no mínimo 5 s de duração acompanhados pela perda do reflexo postural. A recuperação da postura caracterizou o fim da crise convulsiva.

Convulsões induzidas por eletrochoque transcorneal máximo

O método da estimulação elétrica focal repetitiva de diferentes regiões do encéfalo fornece um modelo adequado, prático e relativamente simples para reprodução do fenômeno da epilepsia focal. Esse modelo representa um dos melhores exemplos de uma condição aguda que pode ser repetidamente reproduzido em diversas estruturas neuronais.

Esse método é baseado na observação de que a estimulação por meio de pulsos elétricos repetitivos de parâmetros adequados, é capaz de induzir, em diferentes estruturas neuronais, um padrão característico da atividade epilética relativamente duradoura, que é auto-mantida, isto é, inicia-se após o fim da corrente estimulante e perdura após a mesma, sendo comumente denominada como pós-descarga. Esta atividade pode permanecer localizada no ponto de estimulação, mas pode também se propagar a outras estruturas levando a uma generalização secundária (Mello e cols., 1986).

O protocolo experimental foi realizado conforme descrito a seguir. Transcorridas 3h após a administração oral do EA (0,25 – 1 g/kg) ou água, os camundongos foram submetidos ao eletrochoque transcorneal máximo (60 Hz, 50mA, 0,2 s – Fonte PLAT-2). Os tempos de flexão, extensão e o de recuperação das convulsões induzidas foram registrados com cronômetros. A relação tempo de extensão/tempo de flexão, bem como o tempo de recuperação e o número de mortes, foram adotados como parâmetros para avaliar a atividade anticonvulsivante do EA (Löscher e Schmidt, 1988; Swinyard e cols., 1989).

Sono barbitúrico

Vários trabalhos demonstram que o pentobarbital aumenta a ligação no receptor GABA e benzodiazepínico do complexo receptor GABA_A, potenciando a inibição mediada pelo GABA, tanto pré quanto pós-sináptica ao nível do SNC de mamíferos. Assim, está demonstrado experimentalmente que a ação hipnótica do pentobarbital, determinada pela perda do reflexo postural e tempo de sono em camundongos, está relacionada a função do receptor GABA_A (Chweh e cols., 1987).

O protocolo experimental foi realizado conforme descrito a seguir. Transcorridas 3h após o tratamento oral com EA (0,25 – 1 g/kg) ou água, os camundongos foram tratados com pentobarbital sódico (50 mg/kg), e registrou-se o tempo de indução (latência) e a duração do sono induzido após a administração do barbitúrico. O sono foi caracterizado pela perda do reflexo postural, sendo que a sua retomada caracterizou o fim da hipnose (Carlini e Burgos, 1979; Chweh e cols., 1987).

Temperatura retal

A temperatura corpórea pode ser empregada como índice de alterações de vários neurotransmissores centrais, como agonistas dopaminérgicos (Sanchez, 1989), embora sirva também para distinguir entre agonistas totais ou parciais de receptores benzodiazepínicos (Jackson e Nutt, 1990).

A temperatura retal (° C) dos camundongos foi medida com um termômetro Lumiscope 2018 digital, antes das administrações do EA (0,25 – 1g/kg – v.o.) ou água (valores basais) e 3hs após as mesmas. As mudanças de temperatura

evidenciadas após os tratamentos foram calculadas em relação aos respectivos valores basais.

Sono etéreo

A predição do sono etéreo segue, em linhas gerais, os mesmos princípios do sono barbitúrico, porém o agente indutor obviamente difere. Os mecanismos farmacodinâmicos de ambos os agentes são semelhantes, sendo ambos os efeito de mediação via complexo receptor GABA_A (Chambers e cols., 1978).

O protocolo experimental foi realizado conforme descrito a seguir. Camundongos pré-tratados (3h) oralmente com EA (0,25 – 1 g/kg) ou água foram colocados em uma câmara saturada (30 cm X 20 cm de diâmetro) de vidro transparente hermeticamente fechada. A saturação deu-se através do umedecimento de uma bola de algodão de tamanho padrão (6 g) com 5 mL de éter etílico colocado em um recipiente a 20 cm do nível do chão dentro da câmara, 10 min antes da realização dos testes farmacológicos.

Transcorrido o tempo para saturação da câmara, os animais foram introduzidos individualmente na mesma, registrando-se a latência e a duração da hipnose induzida pelo éter etílico. O sono foi caracterizado quando o animal perdeu o reflexo postural. Uma vez o reflexo perdido, esperou-se 60 s e se retirou os animais da câmara de saturação, colocando-os em decúbito dorsal para registro da duração da hipnose, cujo término foi caracterizado pela recuperação da postura normal.

Cinética plasmática do pentobarbital sódico

Após 3 h da administração do EA (1 g/kg) ou água, os camundongos foram submetidos à anestesia etérea profunda e, então, retirou-se 500 μ L de sangue, como descrito a seguir. Com o auxílio de pipetas Pasteur previamente banhadas em uma solução de EDTA 5%, o sangue foi coletado pela via retro-orbital, colocado em Eppendorfs previamente identificados, que foram centrifugados durante 5 min, a uma rotação de 3.000 rpm (microcentrífuga Labnet, modelo 7). O plasma foi retirado e estocado em freezer a -70°C até análise.

Foram feitas coletas nos tempos de 0 (3hs após o tratamento com o EA via intragástrica) e 30 min, 1, 2, e 3h após a administração de 50 mg/kg de pentobarbital sódico via i.p. De cada animal coletou-se sangue uma única vez, sendo utilizados 10 grupos de camundongos (5 grupos tratados com EA e 5 grupos controles), cada qual constituído por 5 animais.

A dosagem dos níveis de pentobarbital sódico foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE / *High Performance Liquid Chromatography - HPLC*). Esta dosagem foi realizada sob supervisão da Prof^a Dr^a. Roberta Monterazzo Cysneiros no Setor de Produtos Naturais, INFAR, EPM, UNIFESP.

Foram construídas curvas padrão na fase móvel, contendo para o padrão interno de fenobarbital (20 μ L de uma solução 100 μ g/mL) e pentobarbital (20 μ L de uma solução 1, 3, 10, 30 e 100 μ g/mL) mais fenobarbital (20 μ L de uma solução 1, 3, 10, 30 e 100 μ g/mL). Desta mistura 20 μ L foram injetados em triplicata no CLAE, medindo-se as áreas sob os picos com tempos de retenção correspondentes às duas substâncias (fenobarbital = $\pm 3,3$ min e pentobarbital = ± 6 min).

Para o cálculo do rendimento da extração plasmática, foram adicionados 20 µL de fenobarbital e 20 µL de pentobarbital na concentração de 100 µg/mL a 60 µL de plasma de camundongos. O material foi agitado em Vortex por 3 min, adicionou-se 6 mL de uma mistura de éter:hexano na proporção 1:1, o material foi agitado novamente, congelando-se a fase aquosa em mistura de gelo seco com acetona e separando-se a fase orgânica. O solvente orgânico foi evaporado sob nitrogênio ou ar comprimido, retomando-se o material na fase móvel. A fase móvel foi composta por Na₂HPO₄ 0,1 M com metanol grau HPLC, na proporção de 6:4, fluxo de 1 mL / min.

As amostras foram injetadas em alíquotas de 20 µL no CLAE (Shimadzu SPD6AV), composto por 2 bombas LC-8A, um controlador SCL-8A, um integrador Chromatopac C-R4A e um detector eletroquímico SCL-6A. A coluna utilizada foi a Phenomenex ODS 25 cm de fase reversa, com detector espectrofotométrico. A concentração de pentobarbital foi determinada na curva-padrão construída previamente, permitindo estabelecer que o rendimento foi aproximadamente 80%, o que viabilizou o método de extração

Para o cálculo da concentração de pentobarbital nas amostras no sangue dos animais tratados com o EA de *S. cayennensis* 1,0 g/kg nos tempos determinados, o sangue coletado, como previamente descrito, foi centrifugado e separou-se os plasmas. Foram adicionados 20 µL de fenobarbital 100µg/mL a 80 µL de plasma; procedendo-se a extração dos barbitúricos e as dosagens, como descrito anteriormente. A relação das áreas obtidas permitiu a determinação da concentração plasmática do pentobarbital nos plasmas dos animais tratados utilizando-se o fenobarbital como padrão interno.

Avaliação da função hepática

Para a avaliação da função hepática mensurou-se a concentração plasmática das enzimas Gama Glutamil Transferase (γ GT), Transaminase Oxalacética (AST), Transaminase Pirúvica (ALT) e Fosfatase Alcalina em ratos Wistar macho. O uso de ratos nesse protocolo é justificado pelo fato da metodologia de dosagem enzimática estar padronizada para essa espécie no laboratório e de nosso objetivo ser apenas verificar se o tratamento produziria uma hepatotoxicidade, indiretamente medida pelos níveis das enzimas que são comuns às duas espécies.

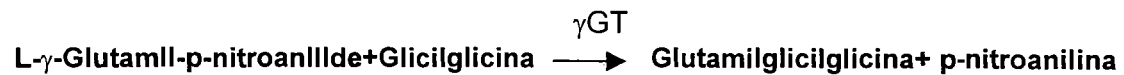
Após 3h da administração oral do EA (1 g/kg) ou água, ratos em tratamento agudo (3h) ou repetido (durante 7 dias) foram submetidos à anestesia etérea profunda e fixados em decúbito dorsal. Através de punção cardíaca, retirou-se 3 mL de sangue de cada animal, depositando esse em tubos de ensaio previamente identificados, com anticoagulante (EDTA 5%), os quais, posteriormente, foram conduzidos à centrifuga (B. Braun Sigma 3K 12), durante 10 min, a uma temperatura de 10° C e rotação de 5.000 rpm.

Transcorridos 10 min, 200 μ L de plasma foram depositados em cubetas e todas as amostras foram submetidas ao aparelho Targa 3000, responsável pela mensuração automática da concentração plasmática das enzimas supracitadas. O aparelho foi previamente calibrado com os substratos de cada enzima (Kits Labtest Diagnóstica) e programado para mensurar suas atividades de acordo com os princípios de cada enzima a ser estudada.

Princípios Bioquímicos

Gama Glutamil Transferase

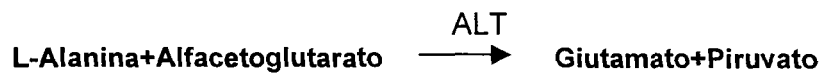
A Gama Glutamil Transferase (γ GT) catalisa a transferência do grupamento Glutamil da L- γ Glutamil-p-nitroanilide para a glicilglicina, formando - γ glutamilglicilglicina e p-nitroanilina segundo a reação seguinte:



A quantidade de p-nitroanilina liberada, que tem elevada absorvância em 405 nm, é diretamente proporcional à atividade da γ GT na amostra (Labtest Diagnóstica, catálogo 61, 2000d).

Transaminase Pirúvica

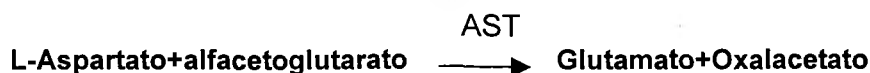
A Transaminase Pirúvica (ALT) promove a transferência de grupamentos amina de alfa aminoácidos para alfacetoácidos.



O piruvato formado é medido através da formação de hidrazona que tem intensa cor em meio alcalino (505 nm) (Labtest Diagnóstica, catálogo 53, 2000c).

Transaminase Oxalacética

A Transaminase Oxalacética (AST) promove a transferência de grupamentos amina de alfa aminoácidos para alfacetoácidos.



O oxalacetato formado é medido através da formação de hidrazona, que tem intensa cor em meio alcalino (505 nm) (Labtest Diagnóstica, catálogo 52, 2000b).

Fosfatase Alcalina

A Fosfatase Alcalina do soro hidrolisa o monofosfato de timoiftaleína liberando timoiftaleína, que tem cor azul em meio alcalino. O produto final da reação é constituído de uma mistura de cor azul e a cor própria do substrato (Labtest Diagnóstica, catálogo 40, 2000a). A cor formada, diretamente proporcional a atividade enzimática, é medida em 590 nm.

Análise estatística:

Os resultados foram expressos como médias \pm erro padrão da média (e.p.m.) e a significância estatística relativamente ao grupo controle foi realizada pelo teste "t" de Student "pareado" e "não-pareado" ou por análise de variância (ANOVA) univariada seguida pelo teste de Bonferroni, considerando-se $P < 0,05$ como indicativo de significância. Os dados foram analisados pelo software Graphpad INSTAT® versão 2.05.

RESULTADOS

Observação geral:**Objetivo**

Avaliar alterações comportamentais e fisiológicas de animais tratados com EA de *S. cayennensis*. A ocorrência de alterações padronizadas indicam possíveis atividades farmacológicas sobre o SNC, servindo de guia para seu estudo posterior. Este teste permite uma avaliação preliminar da toxicidade aguda do EA e da faixa de doses a ser usada.

Resultados

A tabela 3 mostra o número de animais que apresentaram contorções abdominais, pelos arrepiados, ptose palpebral, alteração de movimentação, hipotermia, perda do tônus muscular, tremores, paralisia do trem posterior, aumento de secreções (salivar, brônquica e cromadocriorréia), alteração na consistência de fezes, convulsões e morte nos tempos de 1, 2, 3, 4, 6, 24 e 48 h após o tratamento intragástrico com água ou EA de *S. cayennensis* (0,25; 0,50 e 1,0 g/kg).

Os dados indicam quantos animais entre os administrados com os respectivos tratamentos apresentaram alterações comportamentais e/ou fisiológicas, em relação ao número total de camundongos por grupo.

Os resultados apresentados na tabela 3 mostram que o EA de *S. cayennensis* não produziu alterações significantes de quaisquer parâmetros avaliados, em nenhum dos tempos ou doses usados, quando comparados ao grupo controle.

[TABELA 3 - Parâmetros registrados em camundongos no teste de observação geral em diferentes períodos de observação.

Parâmetros	Tratamento g/kg	1h	2h	3h	4h	6h	24h	48h
Contorções abdominais	C	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,25	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,50	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	1	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
Pelos arrepiados	C	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,25	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,50	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	1	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
Ptose palpebral	C	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,25	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,50	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	1	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
Movimentação	C	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,25	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,50	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	1	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
Hipotermia	C	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,25	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,50	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	1	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
Tônus muscular	C	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,25	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,50	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	1	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
Tremores	C	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,25	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,50	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	1	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
Paralisia do trem posterior	C	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,25	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,50	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	1	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
Secreção	C	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,25	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,50	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	1	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
Diarréia	C	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,25	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,50	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	1	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
Convulsões	C	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,25	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,50	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	1	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
Morte	C	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,25	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	0,50	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	1	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4

Não tendo sido possível detectar nenhuma indicação do tipo de atividade central no teste hipocrático de observação geral, foi realizado um *screening* com o EA de *S. cayennensis*, utilizando-se modelos experimentais que investigam atividades farmacológicas específicas.

Comportamento estereotipado:

Objetivo

Investigar uma possível atividade neuroléptica do EA de *S. cayennensis* Vahl no modelo de comportamento estereotipado induzido por apomorfina.

Resultados

O EA de *S. cayennensis* (0,25 – 1,0 g/kg) não alterou significativamente o índice de estereotipia quando comparado aos valores do grupo controle ($F_{(2,18)}=0,1612$; $P = 0,16$) (Fig. 5). O haloperidol (1 mg/kg, i.p.), droga antipsicótica padrão, bloqueou completamente o comportamento estereotipado em todos os tempos de observação (dados não apresentados).

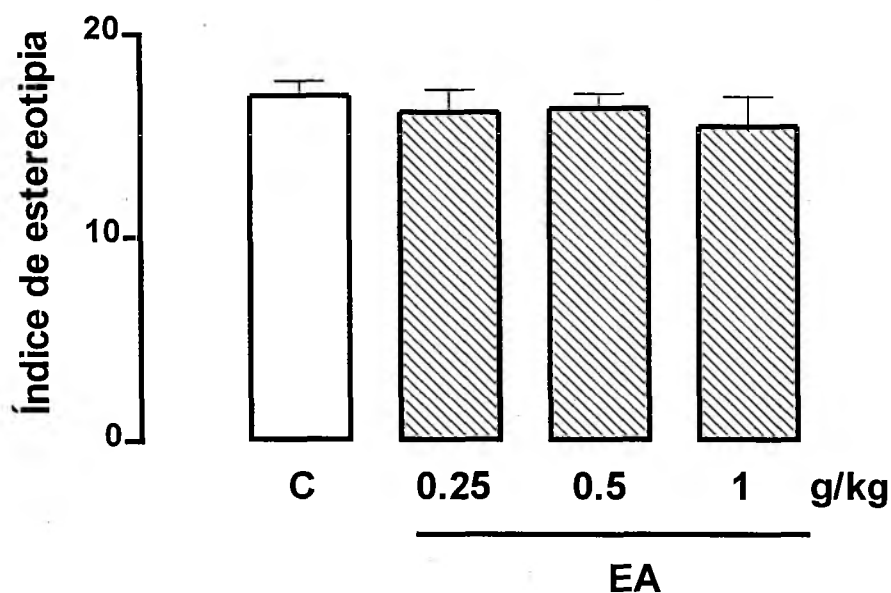


Figura 5 – Efeito da administração prévia (3h) do EA de *S. cayennensis* Vahl (0,25 – 1,0 g/kg – v.o.) sobre o índice de estereotipia em camundongos submetidos ao teste do comportamento estereotipado induzido pela apomorfina (10 mg/kg – i.p.). As observações foram feitas à cada 5 min, durante os 30 min subsequentes à injeção de apomorfina. Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. ($P > 0,05$, ANOVA univariada seguida do teste de Bonferroni).

Atividade locomotora:**Objetivo**

Investigar uma possível atividade do EA de *S. cayennensis* Vahl na movimentação espontânea de camundongos.

Resultados

A figura 6 mostra a movimentação de camundongos tratados com EA de *S. cayennensis* (0,25 – 1,0 g/kg) quando avaliados na caixa de movimentação. Nenhuma das doses de EA usadas alterou significativamente a movimentação espontânea dos animais tratados em relação aos valores do grupo controle ($F_{(3,30)}=0,3666$; $P = 0,77$). O diazepam, droga depressora padrão reduziu significativamente a atividade locomotora dos animais, como mostrado na figura 6.

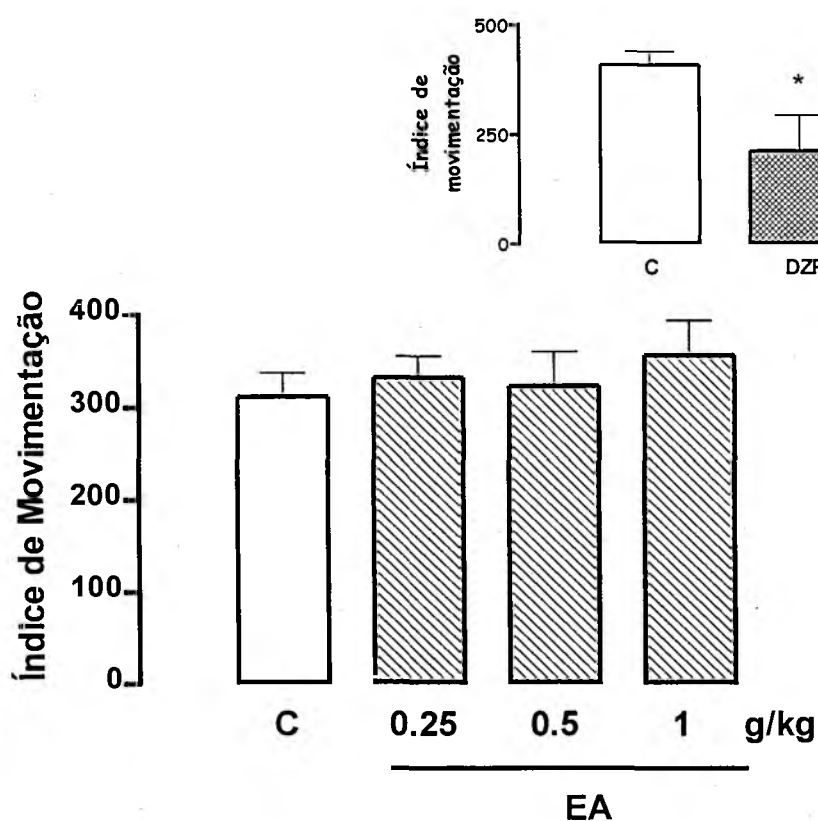


Figura 6 – Efeito do tratamento prévio (2h) com o EA de *S. cayennensis* Vahl (0,25 – 1,0 g/kg – v.o.) na movimentação espontânea de camundongos, avaliada na caixa de movimentação, durante 60 minutos. Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. ($P > 0,05$, ANOVA univariada seguida do teste de Bonferroni). DZP = Diazepam 1 mg/kg i.p., usado como controle positivo.

Nado forçado:**Objetivo**

Investigar uma possível atividade do tipo antidepressiva do EA de *S. cayennensis* Vahl no modelo proposto por Porsolt e cols. (1977).

Resultados

A figura 7 mostra o tempo de imobilidade de camundongos tratados com EA de *S. cayennensis* (0,25 – 1,0 g/kg), quando submetidos ao teste do nado forçado. Nenhuma das 3 doses administradas induziu uma alteração estatisticamente significativa do tempo de imobilidade, quando comparados aos valores do grupo controle ($F_{(3,25)} = 0,4082$; $P = 0,74$). A imipramina, droga antidepressiva padrão, reduziu significativamente o tempo de imobilidade (Fig. 7).

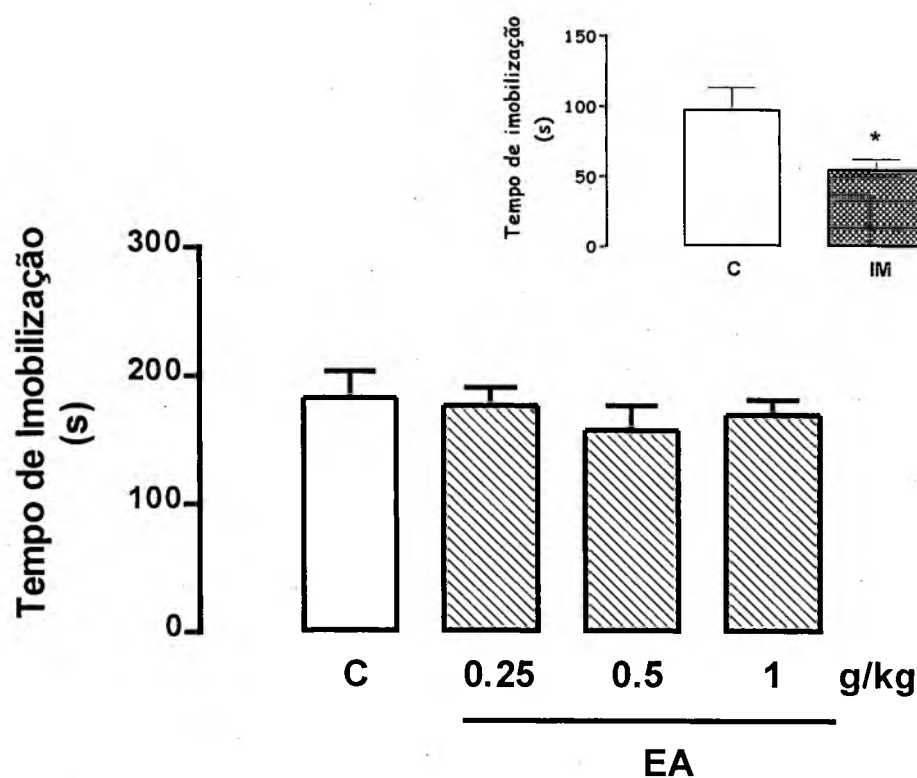


Figura 7 – Efeito do tratamento prévio (3h) com EA de *S. cayennensis* Vahl (0,25 – 1,0 g/kg – v.o.) sobre o tempo de imobilização (em segundos) dos camundongos submetidos ao teste do nado forçado (5 min). Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. Imipramina (IM), 30 mg/kg foi usada como controle positivo. ($P > 0,05$, ANOVA univariada seguida do teste de Bonferroni). IM = Imipramina 15 mg/kg i.p., usado como controle positivo.

Labirinto em cruz elevado:**Objetivo**

Avaliar uma possível propriedade ansiolítica do EA de *S. cayennensis* Vah num modelo sensível a drogas/situações ansiolíticas e ansiogênicas (Rodgers e cols., 1997).

Resultados

Após o tratamento com o EA (0,25 – 1,0 g/kg), os animais do grupo experimental não evidenciaram nenhuma atividade ansiolítica/ansiogênica do EA nos parâmetros avaliados no labirinto em cruz elevado.

A figura 8 expressa o resultado da administração do EA na frequência de entrada (A) e tempo despendido nos braços abertos (B) do LCE. O mesmo tratamento e seus respectivos resultados nos parâmetros de número de entradas nos braços fechados, imersões de cabeça, levantadas e estiramentos são exibidos na figura 9. O diazepam, benzodiazepínico padrão, aumenta, de maneira significativa, os parâmetros de exploração dos braços abertos e de avaliação de risco (Fig. 8 e 9).

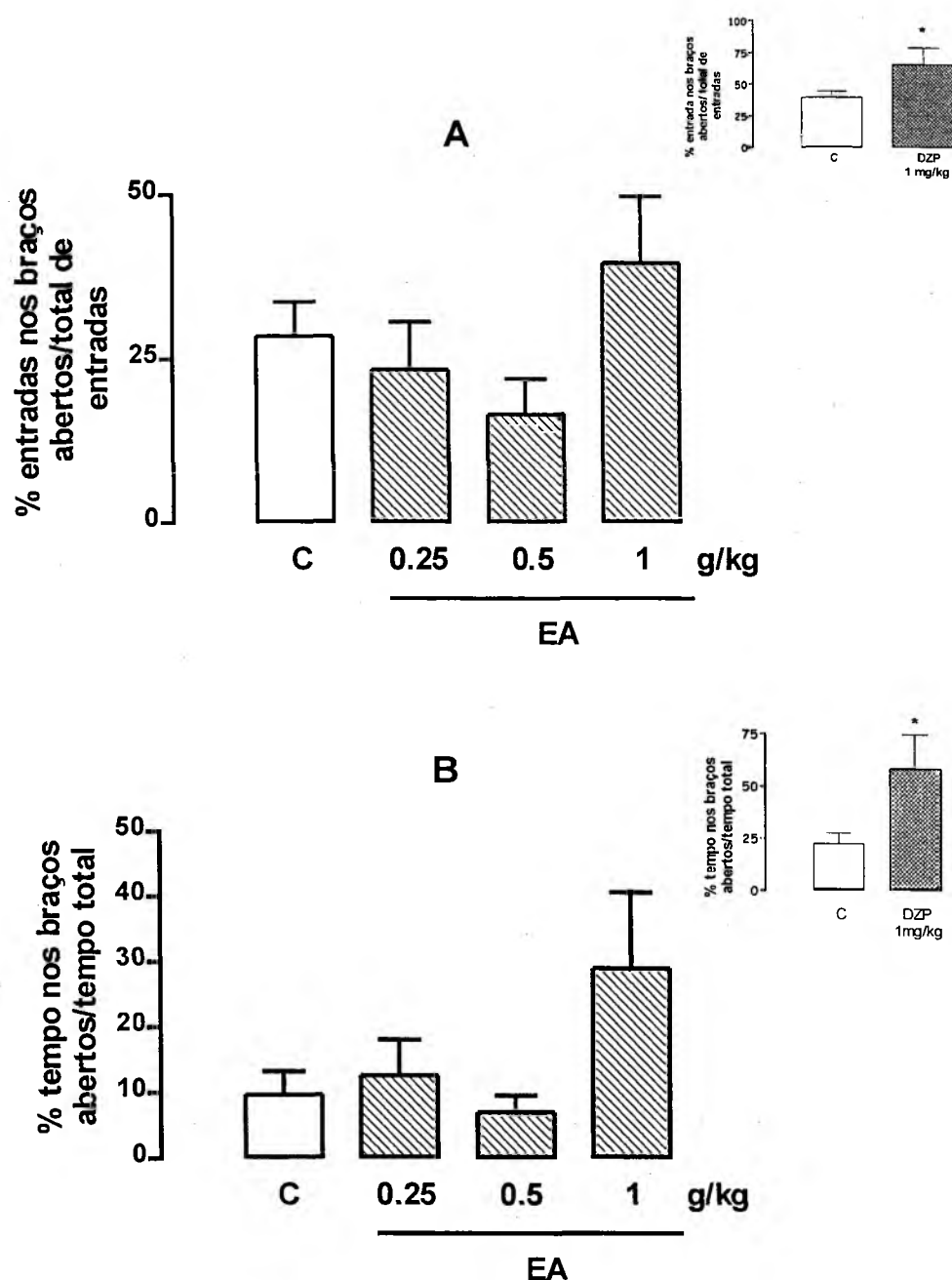


Figura 8 – Efeito do tratamento prévio (3h) com EA de *S. cayennensis* Vahl (0,25 – 1,0 g/kg – v.o.) na frequência de entradas (A) e tempo de permanência nos braços abertos (B) do LCE. Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. ($P > 0,05$, ANOVA univariada seguida do teste de Bonferroni). DZP = Diazepam 1 mg/kg i.p., usado como controle positivo.

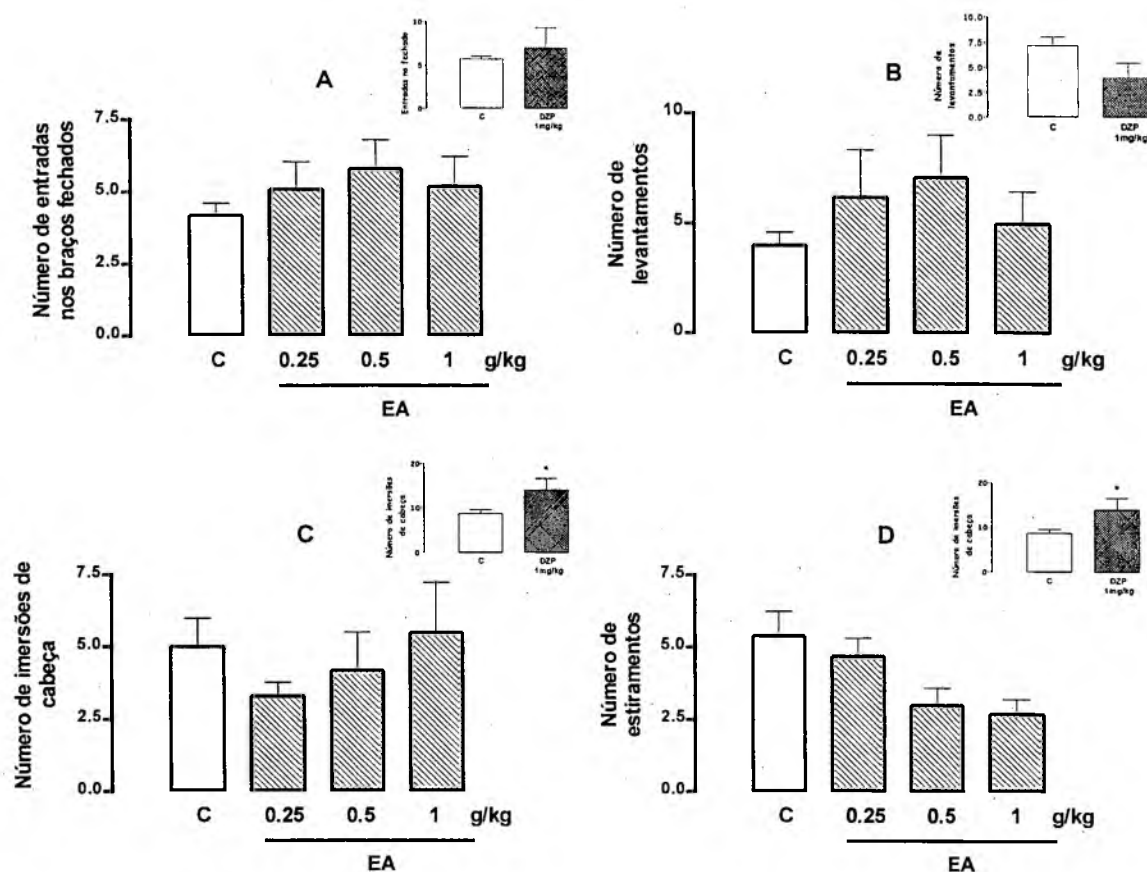


Figura 9 – Efeito do tratamento prévio (3h) com o EA de *S. cayennensis* Vahl (0,25 – 1,0 g/kg – v.o.) no número de entradas nos braços fechados (A), levantamentos (B), imersões de cabeça (C) e estiramentos (D), de camundongos submetidos ao labirinto em cruz elevado por um período de 5 min. Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. ($P > 0,05$, ANOVA univariada seguida do teste de Bonferroni). DZP = Diazepam 1 mg/kg i.p., usado como controle positivo.

Rota-rod:**Objetivo**

Investigar uma possível atividade do EA de *S. cayennensis* Vahl na performance motora de camundongos.

Resultados

A administração do EA de *S. cayennensis* (0,25; 0,50 e 1,0 g/kg) também não alterou a performance motora dos animais avaliados no teste do rota-rod três horas após o tratamento oral agudo. Nenhum dos parâmetros registrados dos animais do grupo experimental diferiram estatisticamente dos valores do grupo controle, assim como a droga padrão, o diazepam.

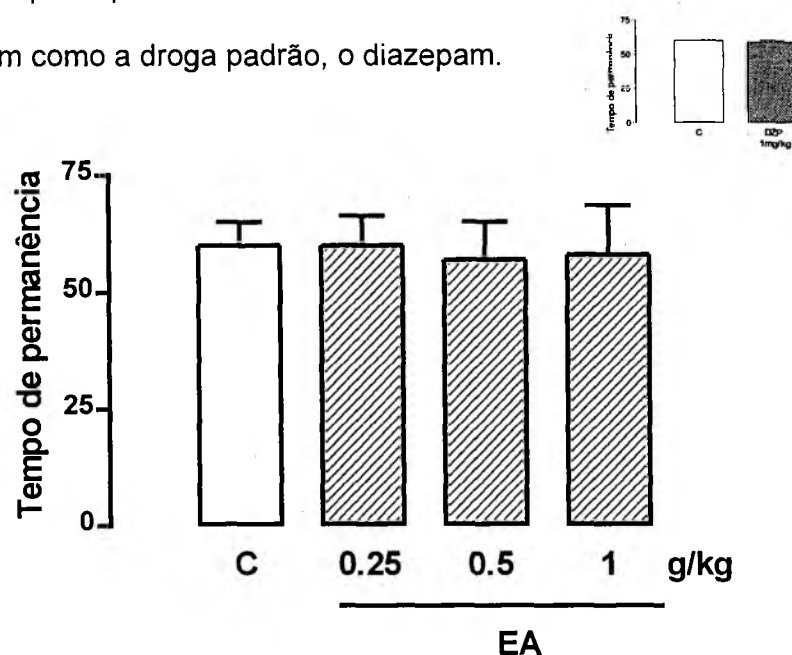


Figura 10 – Efeito do tratamento prévio (3h) com o EA de *S. cayennensis* Vahl (0,25 – 1,0 g/kg – v.o.) sobre o número de quedas de camundongos quando submetidos ao teste do rota rod (1 min). Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. ($P > 0,05$, ANOVA univariada seguida do teste de Bonferroni). DZP = Diazepam 1 mg/kg i.p., usado como controle positivo.

Convulsões experimentais (pentilenotetrazol e eletrochoque transcorneal máximo):

Objetivo

Avaliar uma possível atividade do tipo anticonvulsivante do EA de *S. cayennensis* no modelos clássicos de indução de convulsão.

Resultados

O tratamento dos animais com o EA de *S. cayennensis* (0,25 – 1,0 g/kg) não alterou nenhum dos parâmetros registrados nas convulsões induzidas quimicamente por pentilenotetrazol 80 mg/kg s.c. (latência: $F_{(3,30)} = 2,997$; $P = 0,12$; duração: $F_{(3,32)} = 1,975$; $P = 0,13$; incidência de crises, $P = 0,37$; Fig. 11), enquanto que a droga padrão, diazepam, aumentou significativamente a latência e reduziu a duração das convulsões.

O mesmo tratamento não alterou as convulsões induzidas por eletrochoque transcorneal máximo (60 Hz; 50mA; 0,2 s), onde nem a relação tempo de extensão/tempo de flexão ($F_{(3,27)} = 1,801$; $P = 0,17$; Fig. 12A), nem o tempo de recuperação ($F_{(3,24)} = 0,3163$; $p = 0,81$; Fig. 12B) dos animais tratados com o EA diferiram estatisticamente dos valores do grupo controle. A fenitoína, droga anticonvulsivante padrão, reduziu significativamente a relação TE/TF e o tempo de recuperação das convulsões experimentais (Fig 12 A e B).

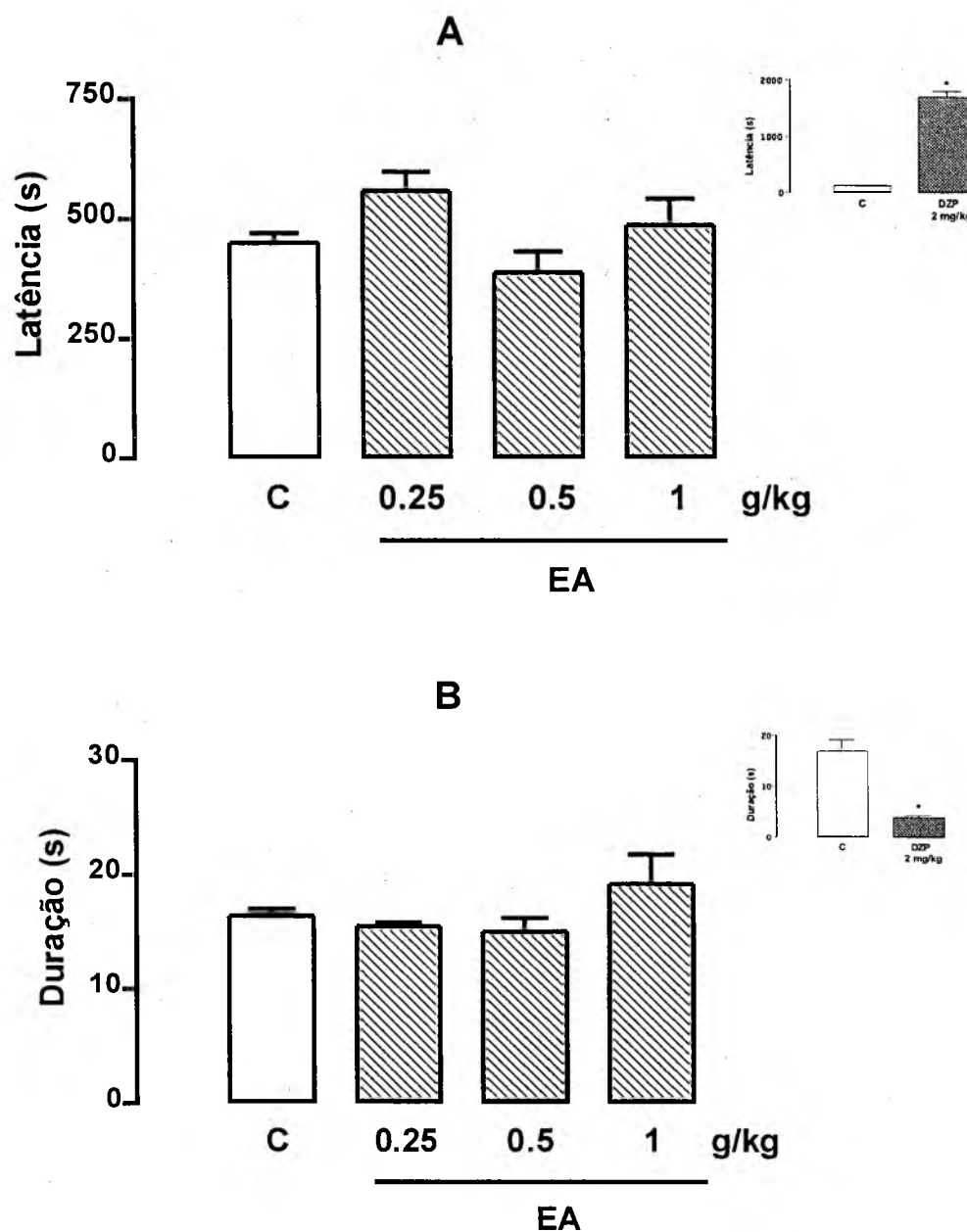


Figura 11 – Efeito do tratamento prévio (3h) com o EA de *S. cayennensis* Vahl (0,25 – 1,0 g/kg – v.o.) na latência (A) e duração (B) da primeira convulsão induzida por pentilenotetrazol (80 mg/kg, s.c.) em camundongos. Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. ($P > 0,05$, ANOVA univariada seguida do teste de Bonferroni). DZP = Diazepam 1 mg/kg, usado como controle positivo.

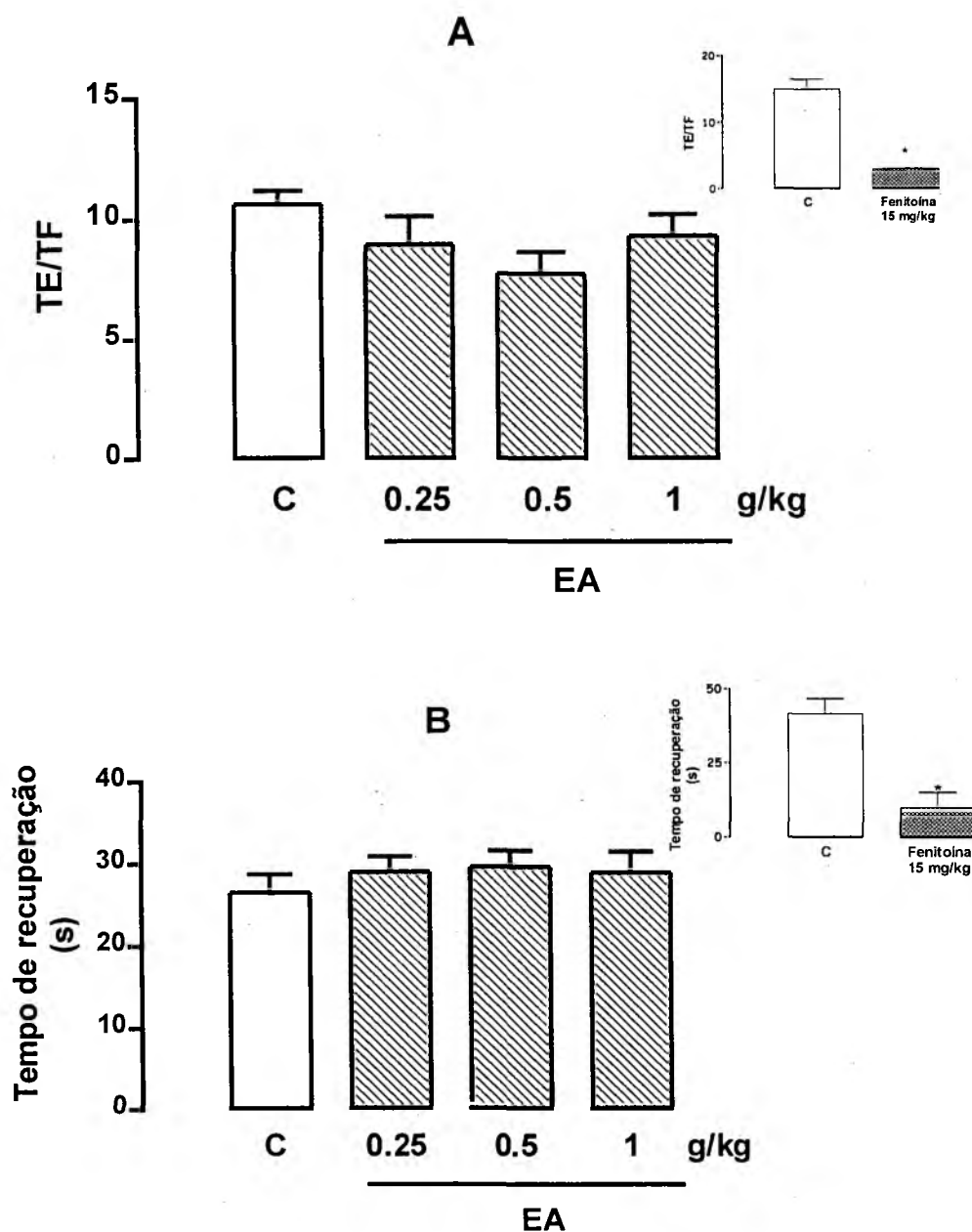


Figura 12 – Efeito do tratamento prévio (3h) com o EA de *S. cayennensis* Vahl (0,25 – 1,0 g/kg – v.o.) sobre o tempo de convulsão (A) e no tempo de recuperação (B) de camundongos submetidos ao teste de convulsão induzida por eletrochoque transcorneal máximo (60 Hz; 50 mA; 0,2 s). Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. ($P > 0,05$, ANOVA univariada seguida do teste de Bonferroni). A fenitoína 15 mg/kg foi usada como controle positivo.

Sono barbitúrico:**Objetivo**

Averiguar uma possível atividade hipno-sedativa do EA de *S. cayennensis* Vahl.

Resultados

O tratamento dos animais com o EA de *S. cayennensis* potencializou o sono induzido por barbitúricos nos parâmetros avaliados.

A maior dose do EA (1,0 g/kg) reduziu a latência para o início do sono como mostrado na figura 13 A (C: $300,2 \pm 18,34$; EA $_{1g/kg}$: $214,5 \pm 9,32$) ($F_{(3,25)}=5,148$; $P < 0,05$), e aumento o tempo total de duração da hipnose (C: $33,1 \pm 9,44$; EA $_{1g/kg}$: $70,7 \pm 5,00$) ($F_{(3,26)}=5,608$; $P < 0,05$; Fig. 13 B). As outras doses do EA usadas (0,25 e 0,5 g/kg) não foram capazes de modificar estatisticamente esses parâmetros (Fig. 13 A e B). O diazepam, hipno-sedativo padrão apresentou um perfil de atividade semelhante.

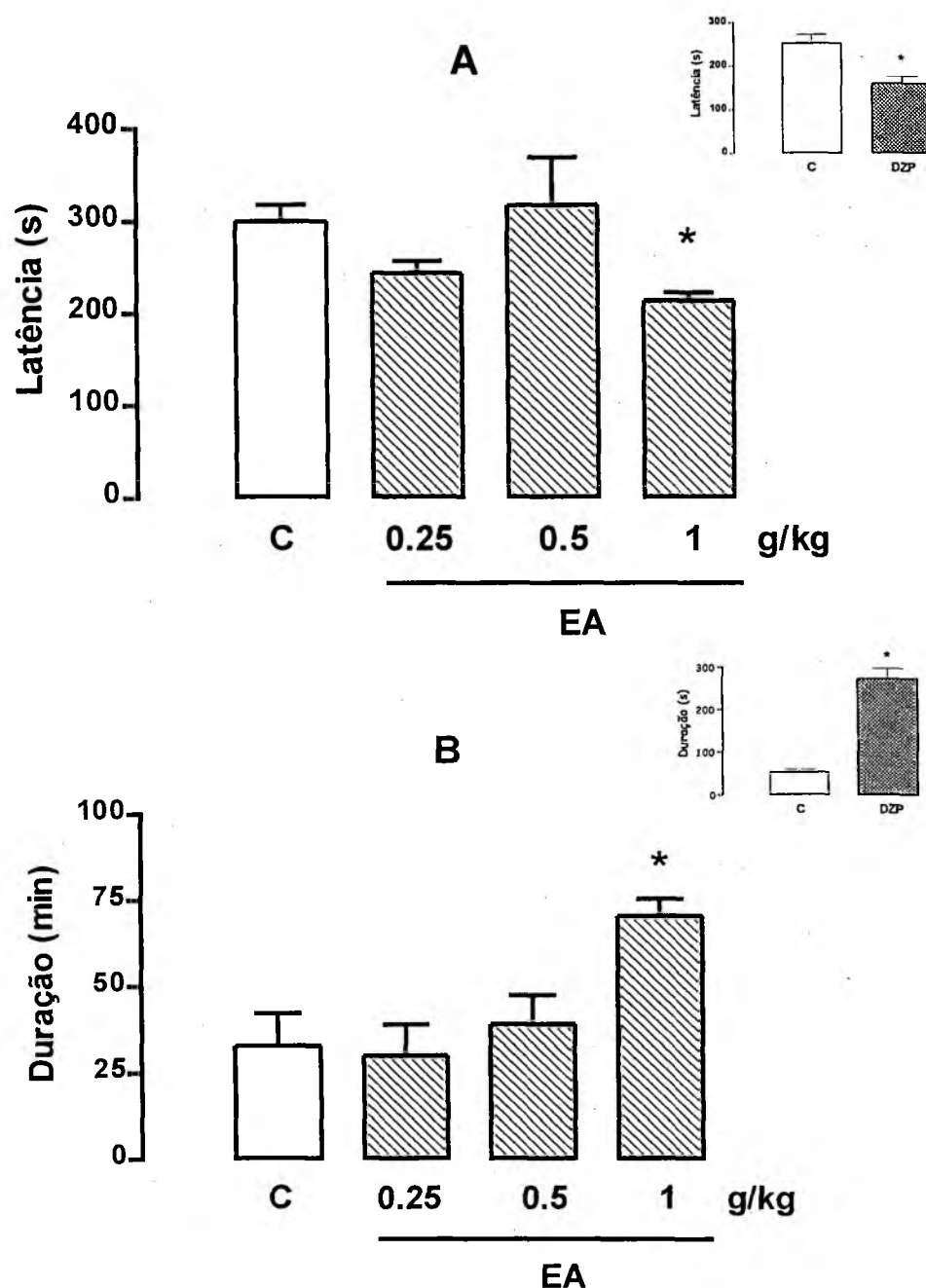


Figura 13 – Efeito do tratamento prévio (3h) com o EA de *S. cayennensis* Vahl (0,25 – 1,0 g/kg – v.o.) na latência (A) e duração (B) do sono induzido por pentobarbital sódico (50 mg/kg – i.p.) em camundongos. Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. (* $P < 0,05$, ANOVA univariada seguida do teste de Bonferroni). DZP = Diazepam 1 mg/kg i.p., usado como controle positivo.

Temperatura retal:

Objetivo

Investigar se a potenciação do sono barbitúrico pelo tratamento prévio com EA de *S. cayennensis* poderia ser atribuída a uma hipotermia produzida por esse extrato.

Resultados

A figura 14 mostra a temperatura retal ($^{\circ}\text{C}$) de camundongos submetidos ao tratamento com EA (0,25 – 1,0 g/kg) ou água. O tratamento oral agudo com o EA não alterou a temperatura dos animais. Os resultados foram expressos como porcentagem da temperatura basal.

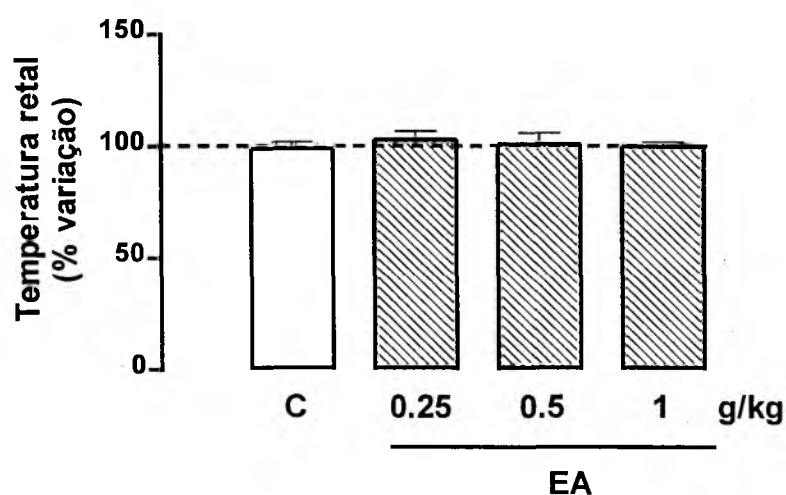


Figura 14 – Temperatura retal de camundongos, 3 h após a administração do EA de *S. cayennensis* Vahl (0,25 – 1,0 g/kg – v.o.). Os dados foram expressos como porcentagem da temperatura basal. Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. (* $P < 0,05$; teste "t" de Student não pareado).

Sono etéreo:**Objetivo**

Verificar se o EA de *S. cayennensis* possuía atividade hipno-sedativa, usando-se um hipnótico sem metabolização hepática, o éter etílico.

Resultado

O tratamento prévio (3h) dos animais com o EA de *S. cayennensis* (0,25 – 2,0 g/kg – v.o.) não alterou a latência ($F_{(4,41)}=0,692$; $P = 0,60$) ou a duração ($F_{(4,42)}=3,594$; $P = 0,01$) do sono induzido pela inalação do éter etílico em camundongos (Fig. 15).

O diazepam (DZP 1 mg/kg), um benzodiazepínico com atividade hipno-sedativa, ansiolítica, anticonvulsivante e relaxante muscular, foi utilizado como droga padrão. O tratamento com DZP aumentou o tempo de duração do sono induzido pela inalação de éter etílico (C: $141,3 \pm 11,60$; DZP: $389,3 \pm 92,02$) ($t = 4,176$; $P < 0,01$), embora não tenha interferido com a latência para indução do sono ($t = 1,282$; $P = 0,21$).

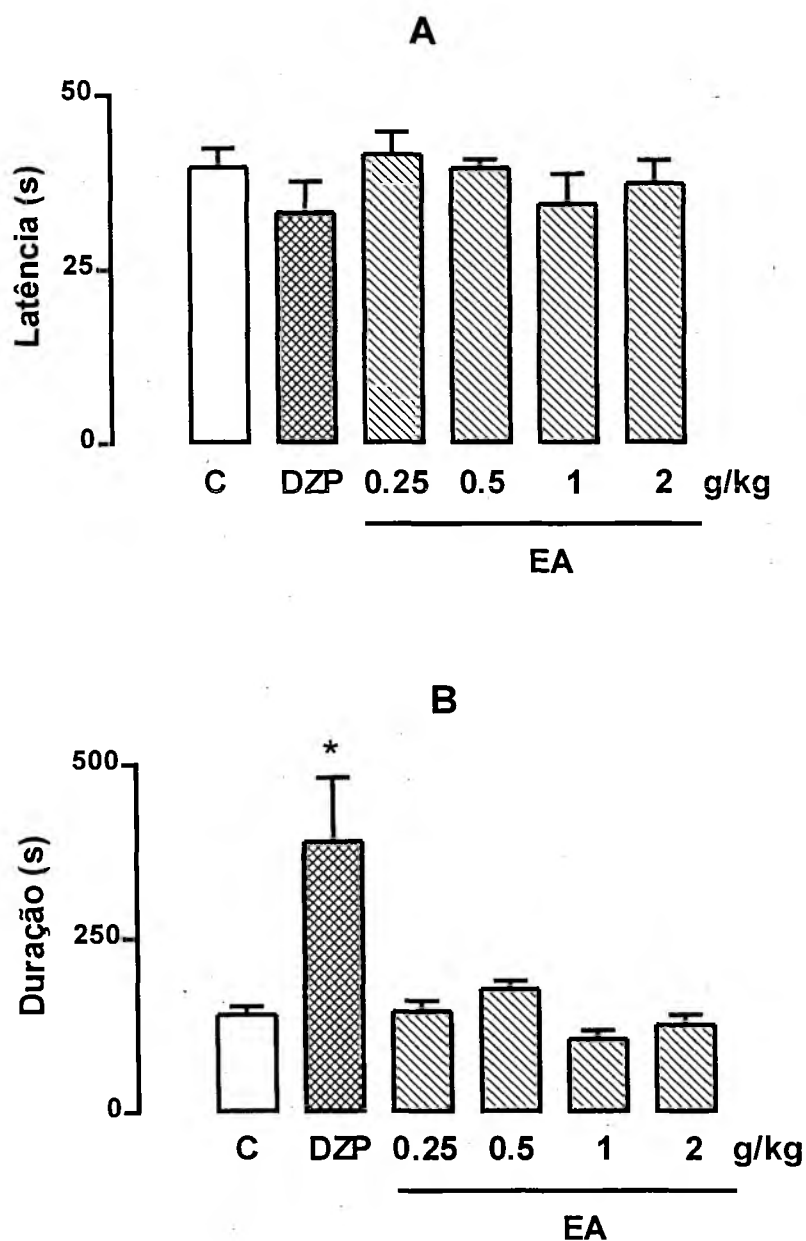


Figura 15 – Efeito do tratamento prévio (3h) com o EA de *S. cayennensis* Vahl (0,25 – 1,0 g/kg – v.o.) na latência (A) e duração (B) do sono induzido pela inalação de éter etílico (5 mL), em camundongos. O diazepam (DZP, 1 mg/kg i.p.), administrado 60 min antes da inalação do éter etílico, foi utilizado como controle positivo do teste. Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. (* $P < 0,05$, ANOVA univariada seguida do teste de Bonferroni).

Cinética plasmática do pentobarbital sódico:**Objetivo**

Verificar se a cinética do pentobarbital sódico seria alterada pelo pré-tratamento de camundongos com o EA de *S. cayennensis*.

Resultados

Os animais submetidos ao tratamento com o EA de *S. cayennensis* (1 g/kg) mostraram um aumento na concentração plasmática de pentobarbital sódico quando comparados aos valores obtidos com o grupo controle (Fig. 16), sendo esse aumento estatisticamente significativo no tempo de 60 min após a administração do barbitúrico

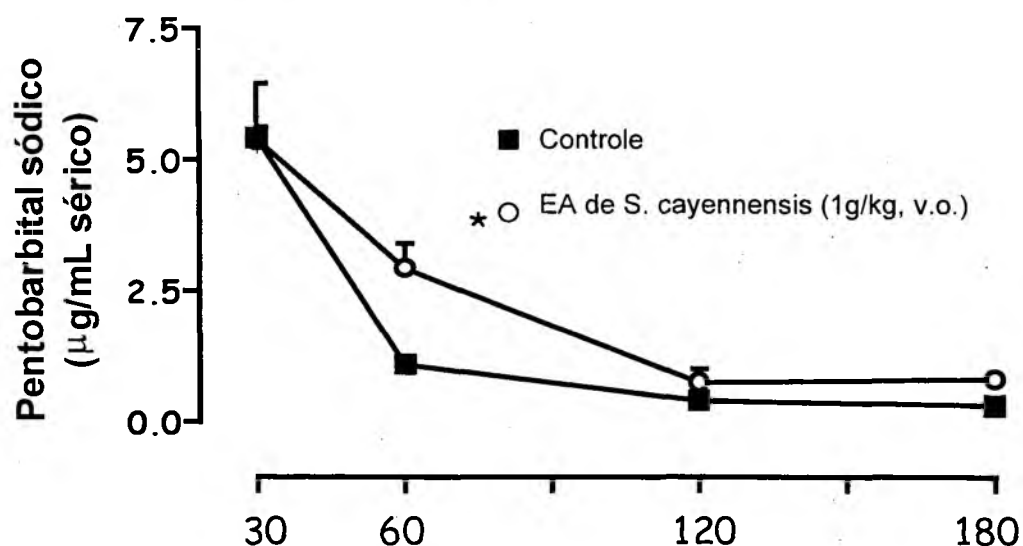


Figura 16 – Efeito do tratamento prévio (3h) com o EA de *S. cayennensis* Vahl (1,0 g/kg v.o.) nos níveis plasmáticos de pentobarbital sódico em camundongos. Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. (* $P < 0,05$; teste "t" de Student não pareado).

Avaliação da função hepática:

Objetivo

Avaliar a função hepática de ratos tratados com EA de *S. cayennensis*, após administração aguda e repetida da preparação.

Resultados

O EA na dose de 1,0 g/kg, não alterou a função hepática de ratos, seja após o tratamento agudo (3 h) ou repetido (7 dias), não mostrando, portanto, nenhuma atividade hepatotóxica.

A concentração plasmática da Gama Glutamil Transferase (T_{3h} : $t = 0,06$; $P = 0,94$; T_{7d} : $t = 0,14$; $P = 0,88$; Fig. 17 A), Transaminase Pirúvica (T_{3h} : $t = 1,01$; $P = 0,32$; T_{7d} : $t = 0,73$; $P = 0,47$; Fig. 17 C) ou Fosfatase Alcalina (T_{3h} : $t = 1,44$; $P = 0,17$; T_{7d} : $t = 0,25$; $P = 0,80$; Fig. 17 D), não foi modificada estatisticamente em ambos os tratamentos, quando comparada aos valores do grupo controle. A Transaminase Oxalacética (Fig. 17 B), foi reduzida apenas em animais tratados agudamente (T_{3h} : $t = 2,88$; $P < 0,05$) ($C = 262,8 \pm 30,74$; $T_{3h} = 149,0 \pm 12,79$), observação que não se confirmou com o tratamento repetido (T_{7d} : $t = 0,73$; $P = 0,47$) do EA de *S. cayennensis*.

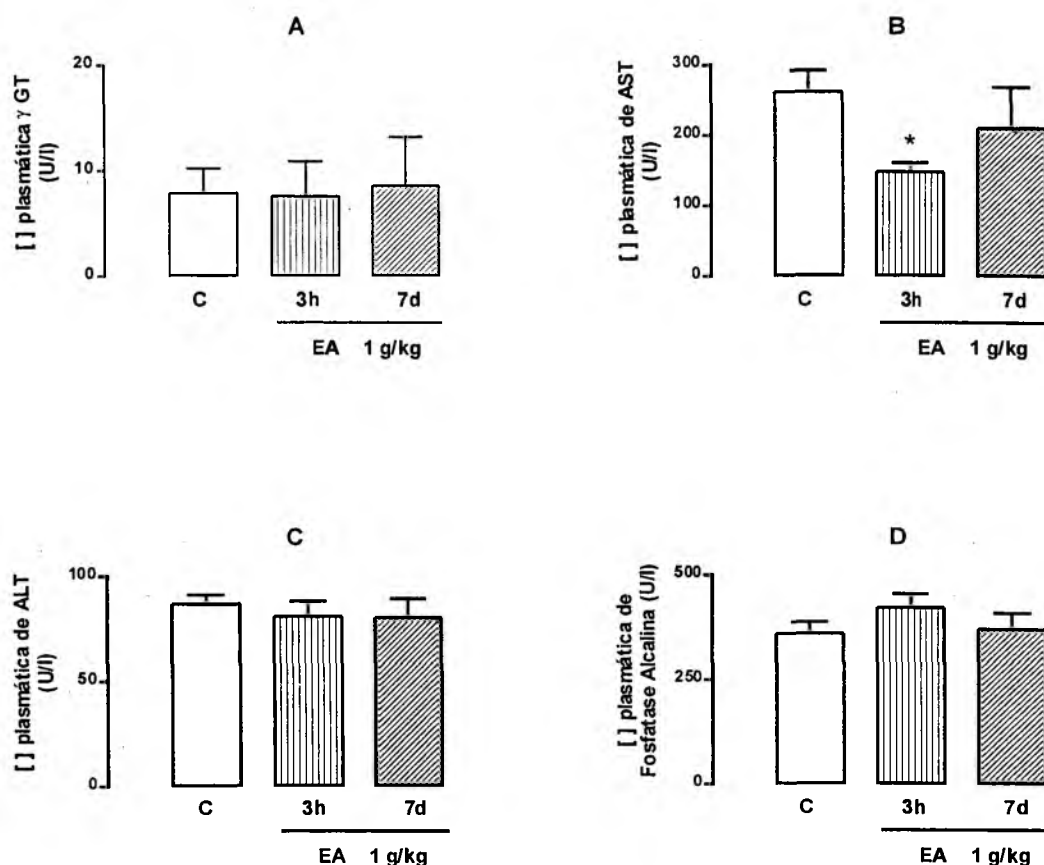


Figura 17 – Concentração plasmática de Gama Glutamil Transferase (A), Transaminase Oxalacética (B), Transaminase Pirúvica (C) e Fosfatase Alcalina (D) no teste de avaliação da função hepática de ratos submetidos ao tratamento agudo (3 h) e repetido (7dias - 7d) com EA de *S. cayennensis* Vahl (1,0 g/kg) . Cada coluna representa a média dos resultados obtidos e as barras verticais os e.p.m. (* $P < 0,05$, teste "t" de Student não pareado).

DISCUSSÃO

Estudos farmacológicos conduzidos com a *S. cayennensis* têm mostrado atividades antiuicerogênica, analgésica e hipotensora do EA (Battistini e cols., 2000a; Battistini e cols., 2000b; Mesia e cols., 1998a; Mesia e cols., 1997; Mesia e cols., 1996a; Schapoval e cols., 1998), porém nenhuma atividade central foi consistentemente demonstrada. No presente estudo, investigamos as ações do EA de *S. cayennensis* no sistema nervoso central de camundongos, procurando avaliar uma possível atividade que pudesse contribuir para as ações farmacológicas já descritas.

Nossos resultados mostram que o tratamento de camundongos com o EA de *S. cayennensis* antes da administração do pentobarbital sódico foi associada com uma redução da latência e prolongamento do tempo de sono induzido pelo barbitúrico, embora outros parâmetros registrados nos diversos modelos farmacológicos comportamentais utilizados no rastreamento de uma possível atividade central não tenham diferido estatisticamente dos valores do grupo controle.

Na ausência de indicações populares ou científicas de uma atividade central do EA que pudessem nos dar um direcionamento no estudo, o teste de observação geral foi realizado na tentativa de obter dados de referência quanto a uma possível atividade, a faixa de doses e a cinética temporal da preparação a ser estudada. Esse teste consiste em registro de alguns parâmetros comportamentais e fisiológicos (relaxamento muscular, movimentação, pelos arrepiados, entre outros) em intervalos pré-determinados, após a administração do EA, os quais podem indicar possíveis atividades a serem investigadas em estudos posteriores (Farnsworth, 1966). Em nosso caso, porém, no teste de observação geral o grupo tratado com EA não diferiu do grupo controle. Assim,

padronizou-se o pré-tratamento dos animais pela via intragástrica com EA em 3h antes dos procedimentos farmacológicos, seguindo o padrão de cinética de estudos anteriores da atividade do EA no trato gastrointestinal (Mesia, 1998e). O material botânico e o modo de preparo do EA usados nesse trabalho também foram semelhantes àqueles usados nos estudos realizados na Escola Paulista de Medicina (UNIFESP), os quais detectaram atividade antiulcerogênica, analgésica e hipotensora da *S. cayennensis*. Também baseado em estudos anteriores, optou-se pelo estudo do EA das partes aéreas do gervão, onde a atividade gástrica era mais evidente (Mesia e cols., 1998f).

Como não obtivemos nenhuma indicação consistente de atividades centrais no teste hipocrático, utilizamos modelos experimentais mais específicos na tentativa de elucidar possíveis atividades farmacológicas centrais do EA de *S. cayennensis*.

No teste do comportamento estereotipado, a administração do EA não alterou estatisticamente o índice de estereotipia dos animais tratados. Estereotipias são repetições incessantes, sem objetivo aparente, de movimentos que fazem parte do repertório normal dos animais, como lambe as patas, cheirar e morder as barras da gaiola onde se encontram, no caso de ratos, e subir as grades, no caso de camundongos. A apresentação do comportamento estereotipado está positivamente correlacionada com uma ativação dos sistemas dopaminérgicos, podendo essa possibilidade ser confirmada pelo pré-tratamento dos animais com haloperidol, um antagonista de receptores dopaminérgicos D₂ que bloqueia esse comportamento. Possivelmente as estereotipias envolvem ativação de programas motores por excesso de dopamina no estriado (Costall e cols., 1978; Graeff e Guimarães, 1999; Lapa e De Lima, 1998). Assim, drogas

com a capacidade de reduzir o índice de estereotipia podem estar interferindo diretamente em vias dopaminérgicas centrais. Nossos resultados, contudo, indicam que o EA não apresenta qualquer atividade relacionada a esse sistema.

Na avaliação da atividade do tipo antidepressiva, pelo teste do nado forçado proposto por Porsolt e colaboradores (1977), o EA não alterou significativamente o tempo de imobilização do grupo experimental quando comparado aos valores do grupo controle. Estudos mostram que a estimulação, principalmente, dos sistemas serotoninérgico/noradrenérgico podem reduzir o tempo de imobilidade, enquanto a inibição dos mesmos não altera esse parâmetro. Assim, o sistema serotoninérgico e o noradrenérgico parecem desempenhar um papel importante no mecanismo de ação dos antidepressivos. Drogas que interferem com essas vias mostram-se úteis no tratamento de alguns distúrbios afetivos (Borsini, 1995). São exemplos os antidepressivos tricíclicos, os inibidores da monoaminoxidase e dos agonistas dos receptores serotoninérgicos do tipo 1A (Borsini, 1995; Kitada e cols., 1981; Porsolt e cols., 1977).

A ausência de diferenças entre o grupo experimental e o grupo controle, em nossos estudos, indicam que o EA de *S. cayennensis* não apresenta este tipo de atividade antidepressiva, sugerindo que o EA não interage com as vias serotoninérgica/noradrenérgica centrais.

Descartadas as possibilidades de atividades do tipo neuroléptica e antidepressiva do EA, procurou-se investigar uma possível ação ansiolítica da preparação. Para isso utilizamos o labirinto em cruz elevado (LCE), modelo primeiramente proposto por Pellow (1985) e, atualmente, amplamente utilizado para o *screening* de drogas ansiolíticas (Hogg, 1996; Dawson e Tricklebank, 1995; Rodgers e Dalvi, 1997). Este modelo baseia-se no fato de que ratos e

outros roedores evitam locais abertos e elevados. Quando neles confinados, mostram sinais de medo (“congelamento”, defecação e micção) e aumento dos níveis plasmáticos de cortisona (Graeff e Guimarães, 1999). O registro de parâmetros etológicos, como o número de imersões de cabeça, posturas de avaliação de risco e o número de levantamentos, bem como o número de bolos fecais, também são válidos na discriminação de drogas com caráter ansiolítico (Lister, 1987; Rodgers e cols., 1997).

Rodgers e colaboradores (1997) têm confirmado que agonistas totais e parciais de sítios benzodiazepínicos produzem mudanças comportamentais no LCE condizente com a redução da ansiedade. Estudos confirmam ainda que roedores não somente evitam os braços abertos do LCE, um dos principais parâmetro usado como índice de ansiedade experimental, como também demonstram que essa aversão é reduzida pelo diazepam e aumentada pela picrotoxina (um agente ansiogênico) (Dalvi e Rodgers, 1996). Assim, o LCE é um modelo muito sensível para drogas benzodiazepínicas, sendo, porém, os resultados obtidos com agentes ansiolíticos não-benzodiazepínicos inconsistentes (Moser, 1989; Rodgers e cols., 1997). Contudo, alguns pesquisadores sugerem que os índices de alguns comportamentos etológicos, como a postura de avaliação de risco, possam estar intimamente relacionados a uma atividade serotoninérgica, e que drogas que alteram esses índices podem ter seu mecanismo de ação envolvido com vias de serotonina no SNC (Griebel e cols., 1997; Molewijk e cols., 1995).

A exemplo do acontecido nos modelos anteriores, a *S. cayennensis* não apresentou resultados significativos que pudessem sugerir uma atividade do tipo ansiolítica ao EA.

Assim, avaliamos o efeito do EA na atividade motora de camundongos. O principal aspecto da atividade motora é a locomoção, a qual é definida como a movimentação de um lado para o outro (Reiter e Macphail, 1979). Sob esse aspecto, a caixa de movimentação vem sendo amplamente utilizada para avaliação desse parâmetro (Angelis, 1979; Carlini e Burgos, 1979; Cory-Slechta, 1989), permitindo uma avaliação da atividade estimulante ou depressora de um determinado composto. Em geral, drogas ansiolíticas em doses não depressoras aumentam a ambulação, ao passo que drogas (ou doses) depressoras reduzem a mesma (Marriott e Spencer, 1965).

Nossos resultados indicam que o EA também não alterou o índice de ambulação dos animais tratados, sugerindo que a *S. cayennensis* não interfere com a atividade locomotora de camundongos.

Para a investigação da performance motora de animais tratados com EA, optou-se pelo modelo do rota-rod. Este teste consiste em colocar camundongos sobre uma barra giratória, onde registra-se, num período de 60 s, o tempo de permanência e/ou o número de quedas desses animais do aparelho (Dunham e Miya, 1957). Esse é um modelo muito usado como teste de neurotoxicidade, onde drogas tóxicas reduzem os valores dos parâmetros observados (Cory-Slechta, 1989). O teste do rota-rod mede o relaxamento muscular (ou incoordenação motora) produzido por algumas classes de drogas. Quanto mais intenso este efeito, menor o tempo que o animal consegue equilibrar-se sobre a barra giratória. Drogas como os benzodiazepínicos e outros hipno-sedativos ou relaxantes musculares, além dos anticonvulsivantes, aumentam o relaxamento muscular e, conseqüentemente, reduzem o tempo que o animal consegue equilibrar-se sobre a barra giratória (Carlini e Burgos, 1979).

A avaliação de camundongos tratados com o EA de *S. cayennensis* e submetidos ao teste do rota rod, mais uma vez, não mostrou diferenças significantes, comparando-se os valores experimentais aos do grupo controle, o que nos indica que a preparação também não apresenta propriedades miorelaxantes e/ou neurotóxicas.

Na avaliação da atividade anticonvulsivante da *S. cayennensis* foram utilizados dois modelos para investigar o efeito do EA no controle de crises convulsivas: (1) as convulsões induzidas quimicamente, pela administração sistemática de pentilenotetrazol (antagonista GABAérgico), e (2) crises induzidas eletricamente, com a aplicação de uma corrente elétrica responsável pelo disparo de potenciais de ação repetitivos em regiões amplas do SNC. Ambos os procedimentos resultam em crises convulsivas nos animais experimentais, simulando a patofisiologia da crise epiléptica humana (Kupferberg, 1992).

O teste de convulsão induzido por pentilenotetrazol identifica substâncias que promovem a elevação do limiar de disparo dos neurônios, sendo que drogas que impedem essas convulsões ou aumentam a latência/diminuem a duração das mesmas, correlacionam-se positivamente com drogas utilizadas no tratamento de epilepsia do tipo crise de ausência em humanos. Já as convulsões induzidas eletricamente possibilitam a identificação de substâncias que previnem a propagação do impulso através de tecidos neurais, e drogas que impedem o aparecimento de convulsões ou bloqueiam o componente extensor dessas convulsões são, em geral, empregadas clinicamente nas epilepsias do tipo tônico-clônicas generalizadas em humanos (Lapa e De Lima, 1998; Löscher e cols., 1991a; Löscher e cols., 1991b; Schickerová e Trojan, 1989; Swinyard e cols., 1989). Esses dois modelos são indicados no *screening* de drogas

anticonvulsivantes (Löscher e Schmidt, 1988; Kupferberg, 1992; Swinyard e cols., 1989).

Anticonvulsivantes, em geral, são drogas depressoras do SNC, sendo úteis no tratamento de várias epilepsias (Delgado, 1990). Embora ambos os modelos utilizados no presente estudo consigam desencadear crises convulsivas nos animais experimentais, a seletividade de drogas em um ou outro modelo indica que as bases neurais envolvidas em cada convulsão se diferenciam, justificando, assim, a discriminação entre drogas com atividades nas crises de ausência ou crises generalizadas do tipo tônico/clônico em humanos (Löscher e cols., 1991a; Miller e cols., 1987). Ambos os modelos empregados mostram-se sensíveis aos benzodiazepínicos, embora a atividade desses compostos seja melhor caracterizada no modelo de convulsão por indução química, como o PTZ (Angelis, 1979). Nas convulsões induzidas eletricamente, estudos indicam que somente os benzodiazepínicos totais mostram-se realmente eficazes (Löscher e cols., 1991a).

Também na avaliação do efeito do tipo anticonvulsivante, o EA de *S. cayennensis* não apresentou indícios da atividade investigada. Em nenhum dos modelos utilizados o extrato alterou, com diferença estatística, os parâmetros avaliados em relação ao grupo controle, sugerindo que o EA está isento de qualquer atividade anticonvulsivante.

No teste do sono barbitúrico, porém, o EA potencializou a ação do pentobarbital sódico, quando comparado aos valores do grupo controle. Estudos evidenciam que a atividade hipnótica do pentobarbital deve-se a ligação do barbitúrico com sítios de ação co-localizados nos receptores GABAérgicos do tipo A (Chweh e cols., 1987; Lancei, 1999; Sivam e cols., 1982). Drogas depressoras do SNC, em geral, reduzem a latência e/ou aumentam a duração do sono

induzido (Lancel, 1999; Lapa e De Lima, 1998). Estudos da literatura revelam que os benzodiazepínicos têm uma ação condizente com esse efeito, sendo o diazepam utilizado nesse modelo como controle positivo, uma vez que age sinergicamente com o pentobarbital, potencializando a hipnose (Chambers e Jefferson, 1977; Lancel, 1999; Skoinick e cols., 1982). Além da propriedade de amplificar efeitos depressores do SNC, os benzodiazepínicos, bem como alguns outros depressores do sistema nervoso central, podem apresentar atividade ansiolítica, anticonvulsivante e interferir com a coordenação motora, tanto no homem quanto nos roedores (Graeff e Guimarães, 1999).

Embora a *S. cayennensis* tenha potencializado o sono barbitúrico, os nossos resultados anteriores não indicam qualquer tipo de atividade depressora central do EA, que indique uma ação do tipo benzodiazepínica, por exemplo. A falta de resultados estatisticamente significantes principalmente nos testes do LCE, atividade locomotora, convulsão induzida por pentilenotetrazol e do rota-rod, modelos sensíveis a drogas que apresentem perfil depressor do tipo benzodiazepínico, descartam a possibilidade de uma ação específica da preparação através da modulação de sítios GABAérgicos ou ainda através de modulação de canais $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$ envolvidos na modulação de potenciais de ação, a exemplo do que ocorre com os benzodiazepínicos ou depressores inespecíficos, respectivamente.

O teste do sono barbitúrico não é específico na avaliação de propriedades tranqüilizantes, uma vez que muitas drogas que não apresentam essa propriedade, como os anti-histamínicos, também causam prolongamento da hipnose barbitúrica (Angelis, 1979).

Frente a tal cenário, resolvemos avaliar o efeito do EA na temperatura retal de camundongos. A temperatura corporal pode ser empregada como índice de alteração de vários neurotransmissores centrais, mas serve também para distinguir entre agonistas totais e parciais de receptores benzodiazepínicos (Jackson e Nutt, 1990), além do fato de que a hipotermia aprofunda o sono barbitúrico. Contudo, o EA não alterou a temperatura basal dos animais, indicando que seu efeito depressor não está vinculado à produção de hipotermia.

Sendo a atividade hipno-sedativa do EA constatada unicamente no modelo de sono induzido por barbitúrico, é pouco provável que a potenciação da hipnose tenha ocorrido devido a um sinergismo farmacodinâmico. Uma explicação plausível para tal efeito seria uma interação farmacocinética entre o EA e o barbitúrico. Optou-se, então, por avaliar uma provável ação do EA na cinética de metabolização do barbitúrico no sistema microsomal hepático, pois é sabido que as enzimas hepáticas estão envolvidas nos processos de metabolização de xenobióticos, sendo de grande importância na eliminação desses do organismo (Pacifici e Fracchia, 1995). Dentro desta linha de raciocínio, se o EA fosse um inibidor desse sistema, deveria reduzir a biotransformação do pentobarbital sódico, com conseqüente aumento da meia vida do barbitúrico, levando a um aumento do tempo de sono.

Assim, inicialmente investigamos a influência do tratamento com o EA sobre o tempo de sono induzido pelo éter etílico, uma droga hipnótica que é metabolizada nos pulmões, que nos indicaria se a potenciação do sono barbitúrico era decorrente de um possível efeito do EA na taxa de metabolismo hepático e não de uma ação depressora sobre o SNC, o que poderia ser melhor investigado.

Nossos resultados revelam que o EA não foi capaz de exacerbar o efeito depressor do éter etílico. O diazepam, usado como controle positivo deste teste, aumentou o tempo de hipnose, conforme descrito em estudos prévios (Chambers e col., 1978). Para confirmar a ineficácia do pré-tratamento com o EA em induzir variações sobre os parâmetros registrados (latência e duração da hipnose), além das doses do EA usadas anteriormente (0,25; 0,50 e 1 g/kg), testamos também a dose de 2g/kg. Esse tratamento, porém, não apresentou significância estatística dos valores da latência e duração do sono quando comparados aos resultados obtidos com o grupo controle.

Todos esses resultados fortalecem a hipótese de que o EA de *S. cayennensis* provavelmente interfere com o metabolismo do barbitúrico *in vivo*. Portanto, investigamos essa hipótese avaliando a cinética do pentobarbital sódico através de CLAE. Observamos que os camundongos pré-tratados com o EA apresentaram uma concentração plasmática do barbitúrico superior aos valores obtidos com os animais do grupo controle. Essa diferença é estatisticamente significativa no tempo de 60 min.

Assim, nossos resultados claramente indicam que o EA de *S. cayennensis* é possivelmente um inibidor do sistema microssomal hepático, em particular das enzimas envolvidas com a metabolização dos barbitúricos. A hidroxilação alifática dos radicais no carbono 5 pelos citocromos P 450 (CYP) dependentes de monooxigenases, principalmente a isoforma CYP 2B, são os mais importantes mecanismos de biotransformação, responsáveis pelo término da atividade biológica do pentobarbital (Nebert e Gonzalez, 1987).

O sistema microssomal de CYP, presente em diversos tecidos, consiste de uma super família de enzimas estruturalmente relacionadas, com massa

molecular na faixa de 47 – 57 kDa, responsáveis por catalisarem o metabolismo oxidativo de uma ampla variedade de compostos endógenos e xenobióticos. Existem mais de 36 CYPs identificados e classificados em famílias, subfamílias e isoformas específicas. Essa divisão tem como base a homologia da sequência de aminoácidos (Lewis, 1996). Embora o mecanismo catalítico do CYP seja similar nas várias isoformas, devido a funcionalidade conservada da região heme-tiolato, a variação dos aminoácidos no sítio de ligação do substrato confere uma seletividade relativa para o reconhecimento e metabolização de diferentes compostos (Pacifici e Fracchia, 1995).

É bem conhecido o fato de que a expressão dos genes do CYP é regulado por uma série de fatores (Leeder e Kearns, 1997; Meyer e Zanger, 1997). Também é sabido que a atividade catalítica do CYP depende do seu nível de expressão que pode, por sua vez, ser modificado em vários estágios. Existe, assim, uma miríade de pontos onde pode acontecer a regulação desse sistema metabolizador (Richelson, 1997; Shen, 1997).

A inibição das enzimas de biotransformação é, em muitas situações, responsável por uma série de interações farmacológicas, sendo os efeitos colaterais resultado dos elevados níveis séricos da droga original e da potenciação dos efeitos farmacológicos (Katzung, 1994). O termo inibição metabólica descreve uma redução da atividade de enzimas responsáveis pelo metabolismo de xenobióticos, sendo que as isoformas de CYP são responsáveis por uma parte significativa do processo (Lewis, 1996).

Atualmente são conhecidos muitos inibidores para as isoformas do CYP 450, alguns específicos para determinadas isoformas. Ensaios farmacológicos tem revelado que uma grande variedade de compostos oriundos de produtos

naturais, em especial de plantas medicinais, tais como monoterpenos (De-Oliveira e cols., 1997; Freitas e cols., 1993), alcalóides (Goloubkova e cols., 1998) e compostos fenólicos (Baer-Dubowska, 1998), entre outros, apresentam atividade inibitória sobre sistemas de metabolização (Blumenthal, 2000). Chung e colaboradores (1995), sugeriram, por exemplo, que a interação de alcalóides pirrolizidínicos com isoformas de CYP pode ser o principal responsável pela toxicidade desses compostos em cobaias. Yamada e colaboradores (1998) ampliaram essa proposta para outros compostos, justificando então a toxicidade de inúmeras plantas ditas medicinais.

No entanto, a potenciação do sono barbitúrico, induzida pelo tratamento prévio dos animais com o EA de *S. cayennensis* poderia decorrer de uma atividade hepatotóxica, e não de uma inibição seletiva do sistema microssomal. Para verificar esta possibilidade investigamos o efeito do tratamento com o EA nas concentrações plasmáticas da Gama Glutamil Transferase (γ GT), Transaminase Pirúvica (ALT), Transaminase Oxalacética (AST) e Fosfatase Alcalina (FA), pois os níveis séricos alterados dessas enzimas são indicadores de hepatotoxicidade.

A γ GT tem aplicação principal no estudo das doenças hepato-biliares, sendo um sensível indicador de doenças inflamatórias e lesão, estando significativamente elevada nas doenças obstrutivas da árvore biliar. Dentre as enzimas analisadas, é a de maior especificidade para avaliar doença hepática. Ambas Transaminases (AST e ALT) são indicadoras de hepatite (viral e tóxica), cirrose, carcinoma hepático, dentre outras patologias. Também são úteis como ferramenta para o diagnóstico de outras disfunções orgânicas como acidentes vasculares e neoplasias envolvendo o cérebro e medula (AST), poliomiosite e

infarto do miocárdio (ALT). A FA é produzida por muitos tecidos, principalmente pelos ossos, fígado, intestinos e placenta. A dosagem sérica desta enzima é particularmente útil na investigação das doenças hepatobiliares e ósseas (Labtest 2000a,b,c,d; Waliach, 1999).

Os níveis séricos dos indicadores de lesão foram analisados em animais submetidos ao tratamento agudo (3 h) e repetido (7dias), procurando evitar a ocorrência de resultados falso negativos. Nossos resultados sugerem que o EA não apresenta qualquer tipo de ação hepatotóxica, uma vez que as concentrações plasmáticas da γ GT, AST, ALT e FA, em ambos os tratamentos, não diferenciaram estatisticamente dos valores obtidos com os grupos controles. Esta observação reforça nossa proposta de que o EA seria um inibidor de enzimas microsomais responsáveis pela metabolização do barbitúrico, como o sistema CYP.

Estima-se que só nos Estados Unidos, 91 milhões de consumidores, cerca de 49% de toda a população adulta, usou fitomedicamentos durante os últimos anos e que 24% (44,6 milhões) faz uso desses regularmente (Johnston, 2000). Eisenberg e colaboradores (1998) relatam que, dentre os pacientes com prescrição médica, 18.4% fazem uso de suplementos alimentares à base de ervas. Assim, devido ao aumento no consumo de produtos derivados de plantas medicinais existe uma grande possibilidade de interação entre medicamentos alopáticos e produtos naturais farmacologicamente ativos (Blumenthal, 2000), podendo isso caracterizar um grave problema de saúde pública.

A *S. cayennensis* Vahl possui ampla distribuição geográfica nas Américas Central e do Sul, sendo consagrada por suas propriedades medicinais em várias partes do mundo (CBCG Botaical Databases, 2000; The Rainforest Plant

Database, 2000). No Brasil, é referendada pela medicina popular como tônico das funções gastrintestinais, antiinflamatória, diurética, analgésica, entre outras propriedades terapêuticas (Alice e cols., 1991; Balbach, 1986; Cruz, 1979; Michalak, 1997), apesar de sua indicação para distúrbios centrais ser praticamente inexistente. Estudos recentes com o EA têm apresentado resultados inconsistentes a respeito da atividade da *S. cayennensis* no SNC de roedores (Mesia e cols, 1998a, 1997; Mesia e Lapa, 1992). Nossos resultados sugerem que parte dessa inconsistência pode ser reflexo da propriedade inibidora do EA sobre os sistemas de metabolização hepática, uma vez que a preparação pode ter um efeito de maior ou menor grau, dependendo do polimorfismo genético para o CYP envolvido nesse processo.

Nossos resultados demonstram que o extrato aquoso de *S. cayennensis* quando administrado antes do pentobarbital sódico exacerba o efeito depressor desse. Porém, nos demais procedimentos farmacológicos, nosso estudo foi caracterizado pela completa inexistência de indicação de atividade central, o que confirma a falta de indicação popular no que se refere ao uso do gervão para o tratamento de distúrbios mentais.

Em contrapartida, a ausência de efeitos sobre os níveis séricos de enzimas indicadoras de lesão hepática e o aumento do tempo de meia vida plasmática do pentobarbital sódico, sugerem que o EA apresenta uma propriedade inibidora do sistema de metabolização que envolve o citocromo P450, um dos principais responsáveis pela degradação metabólica do barbitúrico. Esta proposta é reforçada pela ausência de efeito do EA sobre o tempo de sono etéreo.

Nossos resultados não permitem a identificação de quais das enzimas implicadas na biotransformação de xenobióticos foi diretamente inibida. Da

mesma maneira, não sabemos se o EA possui um efeito específico ou não para a isoforma CYP 2B, principal família de citocromo envolvida na biotransformação do pentobarbital sódico. Assim, estudos posteriores fazem-se necessários para aprofundar esses conhecimentos e identificar o(s) composto(s) responsável(eis) por essa atividade do EA de *S. cayennensis*.

Mesia (1998e), mostrou que a cinética da ipolamiida, um iridóide isolado da *S. cayennensis*, segue o perfil do EA no modelo de sono barbitúrico. Esta observação sugere que a ipolamiida possa ser o princípio farmacológico ativo responsável pela atividade inibitória do EA sobre processos metabólicos de xenobióticos, porém estudos posteriores devem ser realizados para verificar essa hipótese.

CONCLUSÕES

Em conclusão, nossos resultados indicam claramente que o EA de *S. cayennensis* não apresenta qualquer atividade farmacológica no sistema nervoso central de camundongos, confirmando a falta de indicação popular para o gervão no tratamento de distúrbios mentais.

Nossos resultados indicam, no entanto, que o EA é um inibidor do sistema microsomal hepático responsável pela biotransformação de xenobióticos. Essa inibição não tem nenhuma relação com qualquer tipo de hepatotoxicidade, e deve provavelmente estar relacionada às enzimas da família dos citocromos P450 (em especial à sub-família 2B), principais sistemas envolvidos na degradação metabólica do pentobarbital, razão pela qual observamos uma potenciação do sono barbitúrico.

Esses resultados nos levam a sugerir que o EA de *S. cayennensis* possa interferir com a biotransformação de outras drogas e toxinas – como ciclofosfamida, barbitúricos, bromobenzeno, entre outros – os quais são substratos para CYP 2B, caracterizando, assim, possíveis problemas de saúde pública pela sua interação com esses vários xenobióticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALICE, C.B.; VARGAS, V.M.F.; SILVA, G.A.A.B.; DE SIQUEIRA, N.C.S.; SCHAPOVAL, E.E.S.; GLEYE, J.; HENRIQUES, J.A.P.; HENRIQUES, A.T.;
Screening of plants used in South Brazilian folk medicine. **J. Ethnopharmacol** **35**:165-171, 1991.
- ALMEIDA, E.R.; **Plantas medicinais brasileiras**. 1ª edição. São Paulo: Ed. Hemus, 1993.
- ALPERN, H.P.; MCINTYRE, T.D.; Sedative-hypnotic anomalies related to dose of pentobarbital in long-sleep and short-sleep selectively-bred mice. **Pharmacol. Biochem. Behav.** **25**(2):333-336, 1986.
- ALVAREZ, A.; LARIONOVA, M.; CUEVAS, G.M.; Valoración de la actividad antiulcerosa de varias plantas medicinales. **Rev. Cuba. Farm.** **28**(2):138 – 141, 1994.
- ANTEZANA, F.; Essential drugs: whose responsibility? **J R Soc Med** **74**:175-177, 1981.
- BAER-DUBOWSKA, W.; SZAEFER, H.; KRAJKA-KUZNIAK, V.; Inhibition of murine hepatic cytochrome P450 activities by natural and synthetic phenolic compounds. **Xenobiotica**, **28**(8): 735 – 743, 1998.
- BALBACH, A.; **As plantas curam**. 1ª edição. São Paulo: Ed. EDEL, 1986.

BARRETT, B.; Herbs and healing on Nicaragua's Atlantic Coast. **HerbalGram** 41: 35 - 47, 1997.

BARRETT, J.E. & MICZEK, K.A., In: **Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress**, F.E. Bloom & D. J. Kupfer (eds.), Raven Press, Ltd., New York, 1995, pp. 65-73.

BATTISTINI, S.L.; EVANS, I.O.; RIBEIRO, L.T.C.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.J.; LIMA LANDMAN, M.T.; The hypotension induced by *Stachytarpheta cayennensis* Vahl is unrelated to inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) activity. In: LATINAMERICAN CONGRESS OF PHARMACOLOGY, 16., 2000(a), Águas de Lindóia. **Anais**. Res. 10.173, p. 228.

BATTISTINI, S.L.; RIBEIRO, L.T.C.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.J.; LIMA LANDMAN, M.T.; Efeito do extrato aquoso da *Stachytarpheta cayennensis* Vahl, da fração etanólica (FET) e da ipolamiida na musculatura vascular. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 16., 2000(b), Recife. **Anais**. Res. 0.43, p. 215.

BENINGER, R.J.; COOPER, T.; MAZURSKI, E.J.; Automating the measurement of locomotor activity. **Neurobehav. Toxicol. Teratol.** 7: 79 – 85, 1985.

BLUMENTHAL, M.; Interactions between herbs and conventional drugs: introductory considerations. **HerbalGram** 49: 50 – 63, 2000.

- BORSINI, F.; Role of the serotonergic system in the forced swimming test. **Neurosci. Biobehav. Rev.** 19(3):377 – 395, 1995.
- BORSINI, F.; LECCI, A.; SESSAREGO, A.; FRASSINE, R.; MELI, A.; Discovery of antidepressants activity by forced swimming test may depend on pre-exposure of rats to a stressful situation. **Psychopharmacology** 97:183-188, 1989.
- BOURIN, M. Is it possible to predict the activity of a new antidepressant in animals with simple psychopharmacological tests ? **Fund. Clin. Pharmacol.** 4: 49 – 64, 1990.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Central de Medicamentos - Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais, 1996.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Disponível em <<http://www.saude.gov.br/>> Acesso em 26 nov., 2000.
- CABIB, S.; PUGLISI-ALLEGRA, S.; A classical genetic analysis of two apomorphine-induced behaviors in the mouse. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 30: 143 – 147, 1988.
- CAITANO, V.C.; CRISPIN, M.M.; FUTURO, D.O.; KAPLAN, M.A.C.; Novos componentes de *Stachytarpheta cayennensis* Vahl – gervão roxo. In:

REUNIÃO ANUAL SOBRE EVOLUÇÃO, SISTEMÁTICA E ECOLOGIA MICROMOLECULARES, 18., 1996(a), São Paulo. **Anais.**

CAITANO, V.C.; FUTURO, D.O.; KAPLAN, M.A.C.; Etnofarmacologia de *Stachytarpheta cayennensis* Vahl. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14., 1996(b), Florianópolis. **Anais.** Res. 0.66, p. 63.

CALIXTO, J.B.; Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian J. Med. Biol. Res.** **33**:179-189, 2000.

CARLINI, E.A.; BURGOS, V.; *Screening* farmacológico de ansiolíticos: metodologia laboratorial e comparação entre o diazepam e clorobenzapam. **Rev. Assoc. Bras. Psiq. São Paulo** **1**: 25-31, 1979.

CARVALHO, R.A.; AZEVEDO, A.P.; FRAGA, M.C.C.A.; AFIAPOUR, P.; Estudos farmacológicos preliminares do extrato de folhas de *Stachytarpheta cayenensis*. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FeSBE), 12., 1997, Caxambu. **Anais.** Res. 12.097, p.280.

CBCG Botanical Databases. Disponível em <<http://ars-genome.cornell.edu/botany.html>> Acesso em 17 nov., 2000.

- CHAMBERS, D.M.; JEFFERSON, G.C.; RUDDICK, C.A.; Halothane-induced sleeping time in the mouse: its modification by benzodiazepines. **Eur J Pharmacol.** **50**(2): 103 – 112, 1978.
- CHAMBERS, D.M.; JEFFERSON, G.C.; Some observations on the mechanism of benzodiazepine-barbiturate interactions in the mouse. **Br. J. Pharmacol** **60**(3): 393 – 399, 1977.
- CHARIANDY, C.M.; SEAFORTH, C.E.; PHELPS, R.H.; POLLARD, G.V.; KHAMBAY, B.P.S.; Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal properties. **J. Ethnopharmacol.** **64**(3):265-270, 1999.
- CHOPRA, R.N.; NAYAR, S.L.; CHOPRA, I.C.; Glossary of Indian Medicinal plants, Council of Scientific and industrial Research, new Delhi, 1956 *apud* BRASIL. Ministério da Saúde. Central de Medicamentos - Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais, 1996.
- CHUNG, W.G.; MIRANDA, C.L.; BUHLER, D.R.; A cytochrome P4502B form is the major bioactivation enzyme for the pyrrolizidine alkaloid senecionine in guinea pig. **Xenobiotica** **25**(9): 929 – 939, 1995.
- CHWEH, A.Y.; SWINYARD, E.A.; WOLF, H.H.; Hypnotic action of pentobarbital in mice: a possible mechanism. **Exp. Neurol.** **97**:70-76, 1987;

CLAK, A.M.; Natural products as a resource for new drugs. **Pharmaceutical Research** 8 (13):1133 - 1141, 1996.

CORY-SLECHTA, D.A.; Behavioral measures of neurotoxicity. **Neurotoxicology** 10:271-296, 1989.

COSTALL, B.; NAYLOR, R.J.; NOHRIA, V.; Climbing behaviour induced by apomorphine in mice: a potential model for the detection of neuroleptic activity. **Eur. J. Pharmacol.** 50 (1): 39 – 50, 1978.

COX, P.A.; BALICK, M.J.; The ethnobotanical approach to drug discovery. **Scientific American**, 82 – 87, 1994.

CRAGG, G.M.; NEWMAN, D.J.; SADER, K.M.; Natural products in drug discovery and development. **J. Nat. Prod.** 60: 52-60, 1997.

CRUZ, G.L.; **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. 1ª. Edição. Rio de Janeiro: Ed. Civilização Brasileira S.A., 1979.

CRUZ, G.L.; **Livro verde das plantas medicinais e industriais do Brasil**. 1ª. edição, Belo Horizonte, 1965.

DALVI A.; RODGERS R.J.; GABAergic influences on plus-maze behaviour in mice. **Psychopharmacology** 128(4):380-397, 1996.

- DAVIS, A.S.; JENNER, P.; MARSDEN, C.D.; A comparison of motor behaviours in groups of rats distinguished by their climbing response to apomorphine. **Br. J. Pharmac.** **87**: 129 – 137, 1986.
- DAWSON, G.R.; TRICKLEBANK, M.D.; Use of the elevated plus maze in the search for novel anxiolytic agents. **Trends Pharmacol. Sci.** **16**(2): 33 – 36, 1995.
- DE ANGELIS, L.; Animal techiques for evaluating benzodiazepine drugs. **Meth. Find. Clin. Pharmacol.** **1**(3):129-155, 1979.
- DELGADO, J.N.; Anticonvulsants. **Am. J. Pharmac. Edu.** **54**: 186 – 189, 1990.
- DE-OLIVEIRA, C.A.X.; RIBEIRO-PINTO, L.F.; PAUMGARTTEN, F.J.R.; In vitro inhibition of CYP2B1 monooxygenase by β -myrcene and other monoterpeoid compounds. **Toxicol. Lett.** **92**:39 – 46, 1997.
- DE LUCA, C.; GUIISO, M.; MARTINO, C.; -6 β -hydroxyipolamiide, na iridoid glucoside from *Stachytarpheta mutabilis*. **Phytochemistry**, **22**(5):1185-1187, 1983.
- DE LUCA, C.; Isolation of ipolamiide from *Stachytarpheta mutabilis*. **Fitoterapia**, **51**(6): 279-280, 1980.

DE SMET, P.A.G.M.; The role of plant-derived drugs and herbal medicines in healthcare. **Drugs** **54**:801-840, 1997.

DEYN, P.P.; D'HOOGHE, R.; MARESCAU, B.; PEI, Y.Q.; Chemical models of epilepsy with some reference to their applicability in the development of anticonvulsants. **Epilepsy Res.** **12**: 87 – 110, 1992.

DI STASI, L.C.; **Plantas medicinais: Arte e Ciência. Um guia de estudo interdisciplinar.** 1. ed. São Paulo: Ed. UNESP, 1996.

DUARTE, M.G.R.; SOARES, I.A.A.; BRANDÃO, M.; JÁCOME, R.L.R.P.; OLIVEIRA, A.B.; Triagem fitoquímica de plantas daninhas de uso medicinal. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14., 1996, Florianópolis. **Anais.** Res. 101, p. 196.

DUNHAM, N.W.; MIYA, T.S.; A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rat and mice. **J. Amer. Pharmac. Assoc.** **46**: 208-209, 1957.

EISENBERG, D.M.; DAVIS, R.B.; ETTNER, S.L.; Trends in alternative medicine use in the United States, 1990 – 1997. **JAMA** **280**(18):1569 – 1575, 1998.

ELISABETSKY, E.; Sociopolitical, economical and ethical issues in medicinal plant research. **J. Ethnopharmacol.** **32**:235-39, 1991.

ELISABETSKY, E.; Pesquisas em plantas medicinais. **Ciência e Cultura** **39(8)**:697-702, 1987.

ESSMAN, W.D. & LUCKI, I., In: **Biological Basis of Brain Function and Disease**, A. Frazer, P. Molinoff & A. Winokur (eds.), Raven Press, Ltd., New York, 1995, pp. 241-262.

EVANS, F.J.; Natural products as probes for new drug target identification. **J. Ethnopharmacol.** **32**: 91-101, 1991.

EVANS, I.S.; CARDOSO, E.M.; LAPA, A.J.; LIMA LANDMAN, M.T.; Avaliação do efeito de plantas medicinais com ação hipotensora/anti-hipertensiva na atividade da enzima conversora (ECA). In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FeSBE), 14., 1999, Caxambu. **Anais**. Res. 12.081, p. 200.

FARKAS, L.; Active principles of plants of traditional medicine as models of new drugs. **J. Ethnopharmacol.** **2**: 145-148, 1980.

FARNSWORTH, N.R.; HENRY, L.K.; SOUBODA, G.H.; BLOMSTER, R.N.; FONG, H.H.S.; QUIMBY, M.W.; YATES, M.I.; Biological and phytochemical evaluation of plants. Biological test procedures and results from two hundred accessions. **Lloydia** **29**:101-122, 1966.

FARNSWORTH, N.R.; AKERELE, O.; BINGEL, A.S.; SOEJARTO, D.D.; GUO, Z.G.; Medicinal plants In therapy. **Buli. WHO 63**: 965-981, 1985.

FARNSWORTH, N.R.; Ethnopharmacology and future drug development: the North America experience. **J. Ethnopharmacol. 38**:145-152, 1993.

FERREIRA, S.H.; **Medicamentos a partir de plantas medicinais do Brasil**. 1ª edição. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1998.

FRAGA, M.C.C.A.; AFIATPOUR, P.; CARVALHO, R.A.; AZEVEDO, A.P.; Estudo da atividade analgésica e antiinflamatória do extrato hidroalcoólico de *Stachytarpheta cayennensis*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. 15., 1998, Águas de Lindóia. **Anais. Res. 01.018**, p. 47.

FREITAS, J.C.B.R.; PRESGRAVE, O.A.F.; FINGOLA, F.F.; MENEZES, M.A.C.; PAUMGARTTEN, F.J.R.; Effect of β -myrcene on pentobarbital sleeping time. **Brazilian J. Med. Biol. Res. 26**: 519 – 523, 1993.

FRÓES, V.; ROCHA, A.; **Alquimia vegetal. Como fazer sua farmácia caseira**. 2ª edição., Rio de Janeiro: Ed. Nova Era, 1998.

GEREZ, J.C.; Indústria farmacêutica: histórico, mercado e competição. **Ciência Hoje 89(15)**: 21-30, 1993;

- GEYER, M.A. & MARKOU, A., In: **Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress**, F.E. Bloom & D. J. Kupfer (eds.), Raven Press, Ltd., New York, 1995, pp.787-798.
- GOLOUBKOVA, T.D.; HECKLER, E.; RATES, S.M.K.; HENRIQUES, J.A.P.; HENRIQUES, A.T.; Inhibition of cytochrome P450-dependent monooxygenase by an alkalioid fraction from *Helietta apiculata* markedly potentiates the hypnotic action of pentobarbital. **J. Ethnopharmacol.** 60: 141 – 148, 1998.
- GOTTLIEB, O.; KAPLAN, M.A.; Das plantas medicinais aos fármacos naturais. **Ciência Hoje** 89(15): 21-30, 1993.
- GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S.; **Fundamentos de psicofarmacologia**. 1ª edição, São Paulo: Ed. Atheneu, 1999.
- GRAEFF, F.G. & BRANDÃO, M.L., **Neurobiologia das doenças mentais**. 1ª edição, São Paulo, Ed. Lemos, 1993.
- GRIEBEL, G.; RODGERS, R.J.; PERRAULT, G.; SANGER, D.J.; Risk assessment behaviour: evaluation of utility in the study of 5-HT-related drugs in the rat elevated plus-maze test. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 57(4): 817 – 827, 1997.

- GRUEWALD, J.; Production and marketing of phytomedicines in Europe. Possibilities for cooperations with Brazil. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. 15., 1996, Florianópolis. **Anais. Res. CI 01**, p. 21.
- GUPTA, M.P.(ed); **270 plantas medicinales Iberoamericanas. CYTED. 1ª** edição. Colômbia: Ed. Presencia Ltda., 1995.
- HARVEY, A.; Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. **Drug Discovery Today**, 5:294-300, 2000.
- HEISLER, L.K.; TECOTT, L.H.; A paradoxical locomotor response in serotonin 5-HT_{2c} receptor mutant mice. **J. Neurosci.** 20: 1 – 5, 2000.
- HOBBS, C.; Disponível em <[http:// www.healthy.net](http://www.healthy.net)> Acesso em 30 nov., 1998.
- HOEHNE, F.C.; Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais. **Instituto de Botânica-Graphicars-SP**, 1939.
- HOGG, S.; A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 54(1): 21 – 30, 1996.

JACKSON, H.C.; NUTT, D.J.; Body temperature discriminates between full and partial benzodiazepine receptor agonists. **Eur. J. Pharmacol.** **185**(2-3):243 – 246, 1990.

JOLY, A.B.; **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. 10ª edição, São Paulo: Ed. Nacional, 1991.

JOHNSTON, B.A.; Prevention magazine assesses use of dietary supplements. **HerbalGram** **48**:65, 2000.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia básica e clínica**. 5ª edição, Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan S.A., 1994.

KITADA, Y.; MIYAUCHI, T.; SATOH, A.; SATOH, S.; Effects of antidepressants in the rat forced swimming test. **Eur. J. Pharmacol.** **72**:145-152, 1981.

KUPFERBERG, H.J.; Strategies for identifying and developing new anticonvulsant drugs. **Pharm. Weekbl. [Sci.]** **14**(3A): 132 – 138, 1992.

LABTEST DIAGNÓSTICA, **Fosfatase alcalina**. Lagoa Santa - MG, 2000a. Catálogo 40.

LABTEST DIAGNÓSTICA, **Transaminase Oxalacética**. Lagoa Santa - MG, 2000b. Catálogo 52.

- LABTEST DIAGNÓSTICA, **Transaminase Pirúvica**. Lagoa Santa - MG, 2000c. Catálogo 53.
- LABTEST DIAGNÓSTICA, **Gama Glutamil Transferase**. Lagoa Santa - MG, 2000d. Catálogo 61.
- LANCEL, M.; Role of GABA_A receptors in the regulation of sleep: initial sleep responses to peripherally administered modulators and agonists. **Sleep** **22**(1):33-42, 1999.
- LAPA, A.J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.; DE LIMA, T.C.M.; Medicinal plant research in Latin America. In: LUIJENDIJK, T.J.C. (ed); **2000 years of natural products research – past, present and future**. Holanda: Ed. Phytoconsult, 2000(a).
- LAPA, A.J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.; DE LIMA, T.C.M.; Validation of medicinal plants in Latin America: reasons and goals., J. **Etnopharmacol.** , submetido à publicação, 2000 (b).
- LAPA, A.J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.; DE LIMA, T.C.M.; Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (eds); **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 1ª edição. Florianópolis. Ed. UFSC, 1999.

- LAPA, A.J.; CYSNEIROS, R.M.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.;
Plantas medicinais do projeto de pesquisa da central de medicamentos
(CEME) do ministério da Saúde do Brasil, Farmacologia da *Cecropia*
glazioui SNETH. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL.
14., 1996, Florianópolis. **Anais**. Res. 02, pp. 23.
- LAPA, A.J.; SOUCCAR, C.; Substratos naturais para o desenvolvimento e a
produção autóctone de medicamentos. **Estratégias para a investigação
em productos naturales en el Mercosul**. Punta del Este, Uruguai, 1995.
- LAPA, A.J.; DE LIMA, T.C.M.; **Métodos farmacológicos para a validação de
plantas medicinais**. RIVAPLAMED, 1998.
- LEEDER, J.S.; KEARNS, G.; Pharmacogenetics in pediatrics. **Ped. Clin. North
Am.** 44: 55 – 77, 1997.
- LEWIS, D.F.V.; Cytochromes P450. 1st edição. Londres: Ed. Taylor & Francis,
1996.
- LISTER, R.G.; The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse.
Psychopharmacology 92(2): 180 - 185, 1987.
- LÖSCHER, W.; HÖNACK, D.; FASSBENDER, C.P.; NOLTING, B.; The role of
technical, biological and pharmacological factors in the laboratory

evaluation of anticonvulsant drus. II. Maximal electroshock seizure models.

Epilepsy Res. 8: 79 – 94, 1991a.

LÖSCHER, W.; HÖNACK, D.; FASSBENDER, C.P.; NOLTING, B.; The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drus. III. Pentylenetetrazole seizure models.

Epilepsy Res. 8: 171 – 189, 1991b.

LÖSCHER, W.; SCHMIDT, D.; Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations. **Epilepsy Res. 2:** 145 – 181, 1988.

MARQUES, L.C.; Introdução à fitoterapia. In: JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS. 3., 1997, Campinas. **Apostila**,. São Paulo: Ed. Racine, 1997.

MARRIOTT, A.S.; SPENCER, P.S.J.; Effects of centrally acting drugs on exploratory behaviour in rats. **Br. J. Pharmacol. 25(2):**432 - 41, 1965.

MATOS, F.J.A.; **Farmácias vivas – sistemas de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades.** 1ª. edição. Fortaleza: Ed. UFC, 1991.

MELLO, L.E.A.; BOTOLOTZO, Z.A.; CAALHEIRO, E.A.; Modelos experimentais de epilepsia: Uma revisão. **Neurobiologia 49:** 231 – 268, 1986.

MESIA, S.V.; EMIM, J.A.S.; DUTRA, E.L.; MOTIDOME, M.; LIMA-LANDMAN, M.T.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.J.; Avaliação da atividade antinociceptiva do extrato aquoso e da ipolamiida, um iridóide isolado de *Stachytarpheta cayennensis* Vahl. In: REUNIÃO ANUAL DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FeSBE), 13., 1998(a), Caxambu. **Anais**. Res. 12.040, p109.

MESIA, S.V.; MATHEUCCHI, L.G.; LIMA-LANDMAN, M.T.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.J.; Caracterização da atividade anti-úlceras do extrato aquoso da *Stachytarpheta cayennensis* Vahl. em modelos de lesão gástrica aguda, subaguda ou crônica. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. 15., 1998(b), Águas de Lindóia. **Anais**. Res. 01.223, p. 97.

MESIA, S.V.; MOTIDOMI, M.; DUTRA, E.L.; LIMA-LANDMAN, M.T.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.J.; Estudo da atividade anti-secretora do iridóide ipolamiida isolado da *Stachytarpheta cayennensis* Vahl em modelos *in vivo* e *in vitro*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. 15., 1998(c), Águas de Lindóia. **Anais**. Res. 01.224, p. 97.

MESIA, S.V.; MATHEUCCHI, L.G.; MONTIDOMI, M.; EVANS, O.I.; LIMA LANDMAN, M.T.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.J.; Atividade anti-úlceras da ipolamiida, iridóide isolado da *Stachytarpheta cayennensis* Vahl (gervão-roxo). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. 15., 1998(d), Águas de Lindóia. **Anais**. Res. 01.234, p. 99.

MESIA, S.; Mecanismos das ações anti-secretora ácida e antiúlcera gástrica de princípios ativos isolados do gervão-roxo (*Stachytarpheta cayennensis* Vahl). **Tese** Doutorado – Escola Paulista de Medicina-UNIFESP, 1998e.

MESIA, S.V.; MATHEUCCHI, L.G.; TANAE, M.M.; BOSSOLANI, M.P.; MARCHI, R.; LIMA-LANDMAN, M.T.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.J.; Diferenciação da atividade gástrica do extrato aquoso do caule, folhas e da inflorescência de *Stachytarpheta cayennensis* Vahl. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. 15., 1998(f), Águas de Lindóia. **Anais**. Res. 01.227, p. 98.

MESIA, S.V.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.; LAPA, A.J.; Inhibition of gastric acid secretion by the aqueous extract and purified extract of *Stachytarpheta cayennensis*. **Planta Med.** 63:36-39, 1997.

MESIA, S.V.; EMIM, J.A.S.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.J.; Atividade analgésica do extrato aquoso da *Stachytarpheta cayennensis* Schauer (gervão-roxo). In: REUNIÃO ANUAL DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FeSBE), 11., 1996 (a), Caxambu. **Anais**. Res. 10.056, p 188.

MESIA, S.V.; CYSNEIROS, R.M.; LIMA-LANDMAN, M.T.; LAPA, A.J.; Avaliação da atividade da fração etanólica (FET) isolada de *Stachytarpheta cayennensis* Schauer nas enzimas da mucosa gástrica. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. 14., 1996(b), Florianópolis. **Anais**. Res. 084, p.103.

- MESIA, S.V.; EMIM, J.A.S.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.J.; Caracterização da atividade antiácida do extrato bruto aquoso (EB) e de frações semipurificadas de *Stachytarpheta cayennensis* Schauer (gervão-roxo). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. 13., 1994, Fortaleza. **Anais. Res. 315.**
- MESIA, S.V.; LAPA, A.J.; Actividad antiacida y antiulcerogenica del extracto acuoso de *Stachytarpheta cayennensis* Schauer (gervão-roxo). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. 12., 1992, Curitiba. **Anais. Res. 013.**
- MEYER, U.A.; ZANGER, U.M.; Molecular mechanism of genetic polymorphisms of drug metabolism. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 37:** 269 – 96, 1997.
- MICHALAK, E.; **Apontamentos fitoterápicos da irmã Eva Michalak.** 1ª edição. EPAGRI, Florianópolis – SC, 1997.
- MILLER, J.W.; MCKEON, A.C.; FERRENDELLI, J.A.; Functional anatomy of pentylenetetrazol and electroshock seizures in the rat brainstem. **Ann. Neurol. 22:** 615 – 621, 1987.
- Missouri Botanical Garden - w³TROPICOS Nomenclatural Data Base. Disponível em: <<http://mobot.mobot.org/W3T/Search/pick.html>> Acesso em: 20 nov., 2000.

MOLEWIJK, H.E.; VAN DER POEL, A.M.; OLIVIER, B.; The ambivalent behaviour "stretched approach posture" in the rat as a paradigm to characterize anxiolytic drugs. **Psychopharmacology** **121**(1): 81 – 90, 1995.

MOSER, P.C.; An evaluation of the elevated plus-maze test using the novel anxiolytic buspirone. **Psychopharmacology** **99**(1):48-53, 1989.

MOWREY, D.; Rainforest remedies. Disponível em: < <http://www.rain-tree.com>>
Acesso em: 20 nov., 2000.

MUIRATINGA'S. Disponível em < [http:// ruy.Libnet.com.br](http://ruy.Libnet.com.br)> Acesso em 21 nov., 2000.

NEBERT, W.D.; GONZALEZ, F.J.; P450 genes: structure, evolution and regulation. **Annu. Rev. Biochem.** **56**: 945 – 993, 1987.

NISBET, L.J.; MOORE, M.; Will natural products remain an important source of drug research for the future? **Pharmac. Biotechnol.** **8**:708-712, 1997.

OLIVEIRA, L.O.; MARTINS, E.R.; **O desafio das plantas medicinais brasileiras: I – o caso da poaia (*Cephaelis ipecacuanha*)**. 1ª. edição. Rio de Janeiro: Ed. UENF, 1998.

O REMÉDIO FITOTERÁPICO NO BRASIL. Disponível em
<http://orbita.starmedia.com/~mara_danusa> Acesso em 20 set., 2000.

OWEN, R.T.; A critique of widely used neuropharmacological tests. **Meth. Find. Clin. Pharmacol.** **1**(5): 269 – 275, 1979.

PACIFICI, G.M.; FRACCHIA, G.N.(eds); **Advances in drug metabolism in man.**
1st. ed. Bélgica: Ed. European Communities, 1995.

PBIO 100 LECTURES NOTES. Disponível em <<http://www.inform.umd.edu/PBIO>> Acesso em 30 nov., 1998.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S.E.; BRILEY, M.; Validation of open closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **J. Neurosci. Meth.** **14**: 149-167, 1985.

PIO CORREA, M.; **Dicionário das plantas úteis ao Brasil.** Ministério de Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. Vol III, pag. 395, 1984.

PINSKY, C.; BROCKHAUSEN, E.; DUA, A.K.; BOSE, R.; Climbing behavior permits in vivo assessment of pre- and postsynaptic extrapyramidal dopaminergic function in mice. **Neurosci. Biobehav. Rev.** **12**, 195 – 198, 1988.

PORSOLT, R.D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M.; Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, **266**:730-732, 1977.

REITER, L.W.; ROBERT, C.M.; Motor activity: a survey of methods with potential use in toxicity testing. **Neurobehav. Toxicol.** **1**, Suppl.1,: 53 – 66, 1979.

RICHELSON, E.; Pharmacokinetic drug interactions of new antidepressants: a review of the effects on the metabolism of other drugs. **Mayo Clin. Proc.**, **72**:835 – 847, 1997.

ROBINSON, R.D.; WILLIAMS, L.A.D.; LINDO, J.F.; TERRY, S.I.; MANSING, A.; Inactivation of *Strongyloides stercoralis* filariform larvae *in vitro* by six Jamaican plant extracts and three commercial antihelmintics. **West. Indian, Med. J.** **39**(4):213-217, 1990.

RODGERS, R.J.; CAO, B.J.; DALVI, A.; HOLMES, A.; Animal models of anxiety: an ethological perspective. **Brazilian J. Med. Biol. Res.** **30**: 289 – 304, 1997.

RODGERS, R.J.; DALVI, A.; Anxiety, defence and the elevated plus-maze. **Neurosci. Biobehav Rev.** **21**(6): 801 – 810, 1997.

RODRIGUES, M.S.; CASTRO, O.; Pharmacological and chemical evaluation of *Stachytarpheta jamaicensis*. **Rev. Biol. Trop.** **44**(2A): 353- 359, 1996.

- RODRIGUES, M.S., 1992 In: GUPTA, M.P. (ed); **270 plantas medicinales Iberoamericanas**. CYTED. Colômbia: Ed. Presencia Ltda., 1995.
- RODYCZ, A.; Re-descobrimdo as plantas medicinais. **Jornal A Notícia**, Joinville, SC, 14 mar. 1999.
- SACRAMENTO, H.T.; LIMA, A.M.; LIMA, A.L.G.; GONÇALVES, E.M.; MARTINELLI, S.M.; CALIMAN, M.P.; ORLETI, S.; DINIZ, M.C.L.; AMORIM, C.P.; RAVANI, D.G.; Fitoterapia: uma alternativa para a saúde pública. In: Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil. 14., 1996, Florianópolis. **Anais**. Res. 050, p. 58.
- SALLÉ, J.L.; **O totum em fitoterapia: abordagem de fito-bioterapia**. 1ª. edição. São Paulo: Ed. Robe, 1996.
- SAMUELSSON, G.; Nature as a source of new drugs. **Acta Pharm. Nord.** **1**(3): 111-116, 1989.
- SÁNCHEZ, C. The effects of dopamine D-1 and D-2 receptor agonists on body temperature in male mice. **Europ. J. Pharmacol.** **171**: 201 – 206, 1989.
- SCHAPOVAL, E.E.; VARGAS, M.R.; CHAVES, C.G.; BRIDI, R.; ZUANAZZI, J.A.; HENRIQUES, A.T.; Antiinflammatory and antinociceptive activities of extracts and isolated compounds from *Stachytarpheta cayennensis*. **J. Ethnopharmacol.** **60**(1): 53-59, 1998.

- SCHICKEROVÁ, R.; MARES, P.; TROJAN, S.; Rhythmic metrazol activity in rats as a model of human absences. **Activ. Nerv. Super.** **31**: 16 – 19, 1989.
- SEARS, C.; The easy way to sell drugs... **New Scientist**, nov., 1995.
- SHEN, W.W.; The metabolism of psychoactive drugs: a review of enzymatic biotransformation and inhibition. **Biol. Psych.** **41**: 814 – 826, 1997.
- SIH/SUS - SISTEMA DE INFORMAÇÕES HOSPITALARES DO SUS. Disponível em <<http://www.saude.gov.br/>> Acesso em 24 nov., 2000.
- SIVAM, S.P.; NABESHIMA, T.; HO, I.K.; Acute and chronic effects of pentobarbital in relation to postsynaptic GABA receptors: a study with muscimol. **J Neurosci. Res.**, **7**(1):37-47, 1982.
- SKOLNICK, P.; RICE, K.C.; BARKER, J.L.; PAUL, S.M.; Interaction of barbiturates with benzodiazepine receptors In the central nervous system. **Brain Res.** **233**(1): 143 – 156, 1982.
- SPECIALE, S.G.; MILLER, J.D.; McMILLEN, B.A.; GERMAN, D.C.; Activation of specific central dopamine pathways: locomotion and footshock. **Brain Res. Bull.** **16**, 33 – 38, 1986.
- STRÖHL, W.R.; The role of natural products in a modern drug discovery program. **Drug Discovery Today** **2**(5):39-41, 2000.

- SUBRAMANIAN, S.S.; RAMACHANDRAN, N.A.G.; VEDANTHAN, T.N.C.;
Chemical examination of the leaves of *Stachytarpheta indica*. **Indian J. Pharm.** **38**(1):15-16, 1974 *apud* BRASIL. Ministério da Saúde. Central de Medicamentos - Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais, 1996.
- SWINYARD, E.A.; BROWN, W.C.; GOODMAN, L.S. Comparative assays of antiepileptic drugs in mice and rats. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** **106**: 319-330, 1952.
- SWINYARD, E.A.; WOODHEAD, H.; WHITE, S.; FRANKLIN, M.R.; **Experimental selection, quantification and evaluation of anticonvulsants**. In: LEVY, R.; MATTSON, R.; MELDRUM, B.; PENRY, J.K.; DREIFUSS, F.E. (eds); Antiepileptic Drugs, 3^a edition. Raven Press, New York, 1989.
- TAYLOR, L.; Plant based drugs and medicines. Disponível em: < <http://www.rain-tree.com> > Acesso em: 20 nov., 2000.
- TESKE, M.; TRENTINI, A.M.M. **Herbarium - Compêndio de fitoterapia**. 3^a edição. Ed. Herbário Laboratório Botânico, Curitiba - PR, 1995.
- The rainforest plant database. Disponível em: < <http://www.rain-tree.com> > Acesso em: 20 nov., 2000.

TUCKER, J.C.; FILE, S.E.; The effects of tricyclic and 'Atypical' antidepressants on spontaneous locomotor activity in rodents. **Neurosci. Biobehav. Rev.** **10**, 115-121, 1986.

VERPOORTE, R.; Exploration of nature's chemodiversity: the role of secondary metabolites as leads in drug development. **Drug Discovery Today** **3**:232-238, 1998.

XAVIER, H.S.; SOARES, L.A.L.; Presença de verbascosídeo em alguns taxons da flora nordestina. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FeSBE), 8., 1993, Caxambu. **Anais**. Res. 6.16, p. 172.

YAMADA, H.; NAKAMURA, T.; OGURI, K.; Induction of rat hepatic cytochromes P 450 by toxic ingredients in plants: lack of correlation between toxicity and inductive activity. **J. Toxicol. Sci.** **23**(5): 395 – 402, 1998.

WALLACH, J.; **Interpretação de exames de laboratório**. 6ª edição. Ed. Médica e científica Ltda, Rio de Janeiro - RJ, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO; Mental health. Disponível em <<http://www.who.int/>> Acesso em 22 nov., 2000.

ANEXOS

TABELA 4 - Média e e.p.m. do índice de estereotipia avaliado no teste de “climbing behavior” induzido pela apomorfina (10 mg/kg – i.p.) em camundongos tratados oralmente com o EA de *S. cayennensis* (n = 7 animais/grupo).

Tratamento	Controle	EA <i>S. cayennensis</i>		
Doses g/kg	0	0,25	0,5	1,0
Índice de estereotipia	17,0 ± 0,72	16,2 ± 1,10	16,4 ± 0,71	15,5 ± 1,47

TABELA 5 - Média e e.p.m. do tempo de imobilização no teste do nado forçado (5 min.) em camundongos tratados oralmente com o EA de *S. cayennensis* (n = 6 – 8 animais/grupo).

Tratamento	Controle	EA <i>S. cayennensis</i>		
Doses g/kg	0	0,25	0,5	1,0
Tempo de imobilização (s)	183,1 ± 20,88	177,0 ± 14,38	158,1 ± 19,26	170,1 ± 11,89

TABELA 6 - Média e e.p.m. da atividade locomotora na caixa de movimentação automática (60 min) em camundongos tratados oralmente com o EA de *S. cayennensis* (n = 8 – 9 animais/grupo).

Tratamento	Controle	EA <i>S. cayennensis</i>		
Doses g/kg	0	0,25	0,5	1,0
Ambulação	312,6 ± 25,52	332,7 ± 23,08	324,0 ± 36,40	356,8 ± 37,93

TABELA 7 - Média e e.p.m. do tempo de permanência na barra giratória do rotarod (60 s) em camundongos tratados oralmente com o EA de *S. cayennensis* (n = 8 animais/grupo).

Tratamento	Controle	EA <i>S. cayennensis</i>		
Doses g/kg	0	0,25	0,5	1,0
Tempo de permanência (s)	60	58,8 ± 1,16	59 ± 6,05	58,2 ± 8,23

TABELA 8 – Média e e.p.m. dos índices de ansiedade avaliados no labirinto em cruz elevado (5 min) em camundongos tratados oralmente com o EA de *S. cayennensis* (n = 8 – 10 animais/grupo).

Tratamento	Controle	EA <i>S. cayennensis</i>			F e P
Doses g/kg	0	0,25	0,5	1,0	
TA/TA+TF %	9,8 ± 3,56	12,7 ± 5,41	7,1 ± 2,55	29,0 ± 11,62	$F_{(3,18)}$ $P = 0,14$
A/A + F %	28,6 ± 5,24	23,5 ± 7,22	16,7 ± 5,41	39,7 ± 10,20	$F_{(3,18)}$ $P = 0,04$
F	4,2 ± 0,42	5,1 ± 0,95	5,8 ± 1,01	5,2 ± 1,04	$F_{(3,24)}$ $P = 0,80$
R	4,0 ± 0,61	6,2 ± 2,15	7,1 ± 1,93	5,0 ± 1,48	$F_{(3,24)}$ $P = 0,66$
HD	5,0 ± 1,00	3,3 ± 0,49	4,2 ± 1,32	5,5 ± 1,74	$F_{(3,24)}$ $P = 0,60$
SAP	5,4 ± 0,86	4,7 ± 0,64	3,0 ± 0,61	2,7 ± 0,52	$F_{(3,24)}$ $P = 0,04$

TA = tempo despendido nos braços abertos

TF = tempo despendido nos braços fechados

A = entradas nos braços abertos

F = entradas nos braços fechados

R = *rearings* = comportamento de levantar

HD = *head-dippings* = imersões de cabeça

SAP = *stretch attend postures* = estiramentos

TABELA 9 - Média e e.p.m. da latência, duração e número de crises convulsivas induzidas por pentilenotetrazol (80mg/kg, s.c.) em camundongos tratados oralmente com o EA de *S. cayennensis* (n = 9 – 10 animais/grupo).

Tratamento	Controle	EA <i>S. cayennensis</i>		
Doses g/kg	0	0,25	0,5	1,0
Latência (s)	450,7 ± 20,40	558,1 ± 39,84	389,4 ± 43,58	488,1 ± 55,02
Duração (s)	16,4 ± 0,58	15,5 ± 0,31	15,0 ± 1,21	19,2 ± 2,59
Número de crises	1,7 ± 0,14	1,4 ± 0,19	1,8 ± 0,22	1,8 ± 0,39

TABELA 10 - Média e e.p.m. da relação tempo extensão / tempo flexão (TE/TF) e do tempo de recuperação (TR) da convulsão induzida eletricamente (60Hz, 50mA, 0.2 s) em camundongos tratados oralmente com o EA de *S. cayennensis* (n = 8 animais/grupo).

Tratamento	Controle	EA <i>S. cayennensis</i>		
Doses g/kg	0	0,25	0,5 g/kg	1,0 g/kg
TE/TF (s)	10,7 ± 0,55	9,0 ± 1,20	7,8 ± 0,92	9,4 ± 0,90
TR (s)	26,6 ± 2,23	29,1 ± 1,84	29,7 ± 1,97	29,0 ± 2,57

TABELA 11 - Média e e.p.m. da latência e duração da hipnose induzida por pentobarbital (50 mg/kg, i.p.) em camundongos tratados oralmente com o EA de *S. cayennensis* (n = 7 – 8 animais/grupo).

Tratamento	Controle	EA <i>S. cayennensis</i>		
Doses g/kg	0	0,25	0,5	1,0
Latência (s)	300,2 ± 18,34	244,3 ± 13,26	318,1 ± 51,99	214,5 ± 9,32
Duração (s)	33,1 ± 9,44	30,2 ± 9,04	39,4 ± 8,38	70,7 ± 5,00

TABELA 12 - Média e e.p.m. da latência e duração da hipnose induzida por éter etílico (5 mL) em camundongos tratados oralmente com o EA de *S. cayennensis* (n = 8 – 12 animais/grupo) .

Tratamento	Controle	EA de <i>S. cayennensis</i>				Diazepam
Doses g/kg	0	0,25	0,5	1,0	2,0	1,0
Latência (s)	39,8 ± 2,75	41,6 ± 3,28	39,7 ± 1,24	34,5 ± 4,33	37,4 ± 3,37	33,2 ± 4,55
Duração (s)	141,3 ± 11,60	145,8 ± 15,19	177,8 ± 12,34	106,3 ± 12,65	126,4 ± 14,73	389,6 ± 92,02

TABELA 13 – Média e e.p.m. da temperatura retal avaliada em camundongos tratados oralmente com o EA de *S. cayennensis* (n = 8 animais/grupo).

Tratamento	Controle	EA <i>S. cayennensis</i>		
Doses g/kg	0	0,25	0,5	1,0
Temperatura basal (°C)	36,8 ± 0,28	36,9 ± 0,30	37,2 ± 0,23	37,2 ± 0,30
Temperatura pós-tratamento (°C)	36,2 ± 0,21	37,0 ± 0,08	36,9 ± 0,23	36,4 ± 0,16
t	1,676	0,2938	1,245	1,864
P	0,13	0,77	0,25	0,10

TABELA 14 – Média e e.p.m. dos níveis plasmáticos de pentobarbital sódico avaliada em camundongos tratados oralmente com o EA de *S. cayennensis* (n = 4 – 5 animais/grupo – exceto o grupo do tempo 180 min #).

Tratamento	30 min	60 min	120 min	180 min
Controle	5,4 ± 1,05	1,1 ± 0,17	0,4 ± 0,13	0,3 ± 0,0
EA de <i>S. cayennensis</i> 1,0 g/kg	5,4 ± 0,23	2,9 ± 0,48*	0,7 ± 0,26	0,8 ± 0,0
T	0,09	2,88	1,16	---
P	0,92	0,02	0,28	---

* $P < 0,05$ (teste "t" de Student não pareado).

= valores únicos (n = 1)

TABELA 15 - Média e e.p.m. da concentração plasmática das enzimas hepáticas gama glutamil transferase, transaminase oxalacética, transaminase pirúvica e fosfatase alcalina avaliada em camundongos tratados oralmente com EA de *S. cayennensis* (n = 5 – 7 animais/grupo).

Tratamento	Controle	EA <i>S. cayennensis</i> 1,0 g/kg	
Enzimas (U/l)		Tratamento Agudo 3 h	Tratamento Repetido 7 dias
Gama Glutamil Transferase	7,9 ± 2,38	7,6 ± 3,32	8,6 ± 4,63
Transaminase Oxalacética	262,8 ± 30,74	149,0 ± 12,79	211,6 ± 58,51
Transaminase Pirúvica	87,1 ± 4,51	81,1 ± 2,96	80,5 ± 9,06
Fosfatase Alcalina	361,1 ± 27,88	423,3 ± 32,81	372,0 ± 29,34